THESE

PRESENTEE

A LA FACULTE DES SCIENCES DE PARIS VI

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

Christian LE GRIMELLEC

ETUDE PAR MICROPONCTION DE L'EXCRETION URINAIRE DU MAGNESIUM CHEZ LE RAT

Soutenue le 29 mai 1971, devant la Commission d'Examen

MM.	A. JOST	Président
	F. MOREL	Examinateurs
	C. de ROUFFIGNAC	
	C. AMIEL	
	C. LECHENE	

THESE

PRESENTEE

A LA FACULTE DES SCIENCES DE PARIS VI

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

Christian LE GRIMELLEC

ETUDE PAR MICROPONCTION DE L'EXCRETION URINAIRE DU MAGNESIUM CHEZ LE RAT

Soutenue le 29 mai 1971, devant la Commission d'Examen

MM.	A. JOST	Président
	F. MOREL	Examinateurs
	C. de ROUFFIGNAC	
	C. AMIEL	
	C. LECHENE	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550026_0056

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : METHODES ET TECHNIQUES 7

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES 7

II - METHODES ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES CLASSIQUES 8

A. Fabrication des micropipettes 9

B. Préparation des animaux 9

C. Techniques de microponctions - Recollections 11

D. Déroulement d'une expérience 12

E. Traitement des échantillons 14

III - ANALYSE QUANTITATIVE DES ELEMENTS INORGANIQUES PRESENTS DANS DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES LIQUIDES A L'AIDE D'UNE MICROSONDE ELECTRONIQUE DE CASTAING ... 19

A. Généralités sur la microsonde électronique 19

B. Dosage d'échantillons biologiques liquides 24

C. Traitement des échantillons recueillis au cours des expériences de microponction 29

IV - DISCUSSION DES TECHNIQUES - CALCULS ET EXPRESSION DES RESULTATS 30

A. Validité des techniques 30

B. Calculs et expression des résultats 34

AVANT PROPOS AUX CHAPITRES II ET III..... 37

CHAPITRE II : COMPORTEMENT TUBULAIRE DU MAGNESIUM 38

I - EXCRETION DU MAGNESIUM CHEZ LE RAT DANS DES CONDITIONS NORMALES 39

A. Protocole expérimental 39

B. Résultats 40

C. Discussion 44

II - INFLUENCE D'UNE SURCHARGE EN MAGNESIUM, PHOSPHORE OU CALCIUM 48

A. Surcharge en Mg 48

B. Surcharge en phosphore 59

C. Surcharge en calcium 62

D. Discussion des paragraphes B et C 64

CHAPITRE III : INFLUENCE D'UNE SURCHARGE EN MAGNESIUM SUR L'EXCRETION DU PHOSPHORE ET DU CALCIUM 67

I - MODALITES D'EXCRETION DU PHOSPHORE ET DU CALCIUM CHEZ LE RAT PLACE DANS DES CONDITIONS NORMALES 68

A. Résultats 68

B. Discussion 76

II - EFFETS D'UNE SURCHARGE PAR LE MAGNESIUM 80

A. Résultats 83

B. Discussion 87

CONCLUSION 93

APPENDICE : TABLEAUX 97

BIBLIOGRAPHIE 121

INTRODUCTION

Depuis les travaux de KRUSE et col. en 1932 (63) montrant l'effet qu'exerce le magnésium sur la nutrition des animaux, l'importance accordée à son rôle physiologique n'a fait que croître, surtout lors de ces dix dernières années au cours desquelles le développement des techniques d'analyse comme l'utilisation des indicateurs nucléaires (^{28}Mg) et d'analyse quantitative par absorption atomique (3), a permis de le doser aisément et de réaliser des études cinétiques. Ce cation, quatrième par ordre d'importance quantitative dans les fluides extracellulaires, est lié, comme le calcium, en partie aux protéines du plasma et la fraction ultrafiltrable, en majorité ionisée (80 %), représente environ 70 % du total (126). Les modifications de sa concentration plasmatique affectent le taux de secrétion de la parathormone de manière identique à celle du calcium (45, 46, 50, 74, 80, 112) et peut être également celui de la thyrocalcitonine bien que ce dernier point ne fasse pas l'unanimité (74, 99). Elles agissent également sur l'absorption intestinale du calcium et du phosphore (2, 29, 30, 85), et sur les processus d'ossification (127) et il semble maintenant difficile de séparer l'étude du comportement du Mg de celle de ces deux éléments, la notion de métabolisme phospho-magneso-calcique remplaçant progressivement celle du phosphocalcique.

Les échanges entre les milieux intra et extra cellulaires sont lents, tout au moins chez les mammifères et pendant les trois premières semaines qui suivent l'installation d'une hypomagnesemie sévère, le contenu en Mg des erythrocytes reste constant (127). A l'intérieur de la cellule même où sa concentration à l'état libre est très incertaine (127), il joue un rôle important dans la stabilité des ribosomes (73) et dans de nombreuses réactions enzymatiques, notamment celles qui impliquent l'intervention des ATPases des membranes erythrocytaires et mitochondriales (22, 121).

Chez l'homme (51) comme chez le rat (2) placés dans des conditions normales, les excrétions urinaires et fécales représentent respectivement 40 et 60 % de la quantité ingérée. Toutefois, l'excrétion fécale semble résulter d'un phénomène d'absorption peu contrôlé et être principalement déterminée par le contenu en Mg du régime (51). Par contre, les expériences de MENDEL et BENEDICT (81) réalisées chez le chien, le chat et le lapin, ont montré, dès le début du siècle, que le rein de ces animaux était capable d'éliminer, pendant les premières 48 heures, 80 % d'une surcharge en Mg administrée par voie intrapéritonéale. Cet organe possède donc un rôle essentiel dans la régulation du contenu en Mg de l'organisme.

La plupart des études sur le comportement rénal de cet élément ont été réalisées en utilisant la technique des clearances comparées, développée par SMITH et son école (58, 111) et celle de la diurèse interrompue de MALVIN et WILDE (76). Ces deux dernières années cependant, par suite de la mise au point de nouvelles techniques d'analyse, les résultats d'expériences de microponction effectuées chez le chien par BRUNETTE et col. (21) et WEN et col. (123) et chez un rat dans notre laboratoire (88), ont permis de préciser certains aspects de ce problème. Afin de replacer notre travail dans son contexte, nous rappellerons brièvement les données essentielles obtenues par ces différents abords en commençant par celles qui résultent des études globales sur l'urine définitive.

Le rein des mammifères excrète, dans des conditions normales, moins de 10 % du magnésium qui a été filtré (28, 52, 131, 132). Les travaux de GINN et col. (44), MURDAUCH et ROBINSON (91), SAMIY et col. (109) et BRONNER et THOMPSON (19), ont montré que, chez le chien, ce cation pouvait passer des capillaires péritubulaires dans le fluide intratubulaire au niveau des tubules contournés proximaux.

Sa présence dans l'urine urétérale s'explique donc par une filtration par les glomérules suivie d'une réabsorption résultant d'une prédominance du flux entrant par rapport au flux sortant. Chez l'homme et chez le lapin, par

contre, SCHOUTENS et RAYNAUD (113) et RAYNAUD (102) n'ont pas pu mettre en évidence de flux sortant et tout le magnésium de l'urine provient donc de celui filtré par les glomérules.

Le site majeur de cette réabsorption a été déterminé chez le chien par WESSON et LAULER (130) et SAMIY et col. (109) et correspond à une région du néphron, où le P.A.H. n'est plus secrété et où le minimum de concentration est obtenu pour le sodium, que les auteurs définissent comme la "partie proximale du néphron distal". L'intervention d'un processus de secrétion dans des conditions expérimentales de surcharge en Mg chez le chien et le rat, ou pathologiques chez l'homme, a été décrite par BARKER et col. (12) GINN et col. (44) KNIPPERS et HEHL (61), AVERILL et HEATON (10) et VOSTAL et col. (121), mais elle n'a été démontrée que chez le chien et très récemment par WEN et col. (129). L'existence d'une capacité de réabsorption maximum (TM Mg) du rein pour ce cation est très controversée aussi bien chez l'homme (28, 51) que chez le chien (128). Le seul travail effectué sur ce sujet chez le rat (10) plaide en sa faveur. L'hypothèse d'un mécanisme de transport commun au magnésium et au sodium ou au calcium, dans différentes parties du néphron, a souvent été avancée (15, 52, 72, 79, 131) mais les expériences réalisées n'ont, jusqu'à présent, jamais permis de la vérifier ou de l'infirmer de façon incontestable. Les auteurs sont unanimes à reconnaître l'action hypomagnésurique de la thyrocalcitonine (6, 35, 92, 94, 101), dont l'effet se manifesterait déjà dans le tubule contourné proximal (70). Il n'en est pas de même en ce qui concerne l'influence de la parathormone qui, selon les travaux, se traduit par une diminution (74, 78) ou une augmentation (50) de l'excrétion du magnésium.

Les résultats préliminaires d'une expérience de microponction effectuée chez un rat, dans notre laboratoire (88), et ceux obtenus dans le même temps par BRUNETTE et col. (21), puis plus récemment par WEN et col. (128), ont permis de préciser les sites de réabsorption de ce cation le long du néphron. Il semble, en fait, qu'il existe une différence de comportement tubulaire entre ces deux espèces : chez le chien la réabsorption

proximale serait isotonique et identique à celle du sodium, et une grande partie du Mg filtré par les glomérules serait donc réabsorbée le long de ce segment. Une réabsorption additionnelle surviendrait dans l'anse de Henlé et se poursuivrait avec une faible intensité dans la partie terminale des néphrons. Ces résultats sont en désaccord avec ceux obtenus à l'aide de la technique de diurèse interrompue par WESSON et LAULER (130) dont le pouvoir localisateur reste cependant très approximatif. Chez le rat, par contre, la concentration du Mg dans le fluide tubulaire semble s'élever le long du tubule contourné proximal ce qui traduirait un pouvoir de réabsorption faible de la part de cette structure. La plus grande part de la réabsorption s'effectuerait entre la fin du tubule proximal et le début du tubule distal, donc au niveau de l'anse de Henlé. Cette expérience préliminaire, toutefois, ayant été réalisée en utilisant le ferrocyanure de sodium comme indicateur glomérulaire, la formation de complexe entre ce polyanion dissocié certainement en partie et le Mg, pourrait peut-être expliquer la divergence constatée.

La mise au point, dans notre laboratoire par MOREL et ROINEL (87), d'une nouvelle technique de détermination quantitative des éléments inorganiques contenus dans des échantillons liquides de très petit volume, nous a permis de disposer d'un instrument capable de doser simultanément des échantillons de plasma, de microponction et d'urine. Au cours de ce travail nous nous sommes donc principalement attaché à déterminer les modalités de l'excrétion rénale du Mg chez le rat, en utilisant la technique des microponctions tubulaires, introduite par RICHARDS (103) qui permet une localisation précise, le long des néphrons, des phénomènes étudiés. Le comportement tubulaire du magnésium a d'abord été défini chez les animaux placés dans des conditions normales (rats non diurétiques) qui ont reçu ensuite, par perfusion intraveineuse, des solutions enrichies en Mg, en P ou en Ca. Ces trois types de surcharge ont été réalisés par suite des liaisons étroites qui existent entre les métabolismes de chacun de ces éléments. De plus, l'augmentation de la magnésémie pouvait faire apparaître à la fois une capacité de secrétion et de réabsorption limitée des tubules rénaux pour le Mg, masquée chez les animaux non diurétiques. Une période

dite de retour aux conditions initiales a été ménagée après l'arrêt des surcharges pour tester la réversibilité des phénomènes induits.

L'analyse simultanée des principaux électrolytes présents dans le fluide tubulaire nous a, par ailleurs, amené à considérer les effets de l'hypermagnésémie sur les mécanismes de réabsorption du calcium et du phosphore. Elle nous a également permis de rechercher les relations qui pouvaient exister entre les processus de réabsorption du Mg et ceux de ces deux ions.

CHAPITRE I

METHODES ET TECHNIQUES

Ce chapitre est consacré à la présentation des conditions expérimentales et des techniques utilisées lors de la réalisation de notre travail. Nous rappellerons brièvement le principe de la technique des microponctions dont la pratique est maintenant courante en physiologie rénale et les méthodes physico-chimiques habituelles de détermination de certains composants des échantillons liquides qu'elle permet d'obtenir. L'analyse quantitative au moyen d'une microsonde électronique des éléments présents dans des échantillons liquides de volume inférieur au nanolitre (1 nl = 10^{-9} l) fera l'objet d'un exposé plus détaillé. La dernière partie sera réservée à la discussion de ces techniques.

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES

La stimulation de la sécrétion de la thyrocalcitonine et l'inhibition de celle de la parathormone par le complexe thyroparathyroïdien sous l'influence d'une hypercalcémie et l'inversion de ces phénomènes en cas d'hypocalcémie, sont des faits maintenant bien établis et bien décrits dans les récentes monographies portant sur le métabolisme phosphocalcique (9, 23, 33, 34, 82, 89). Depuis ces trois dernières années les travaux de GITELMAN et col. (45, 46), CLARK (29), SHERWOOD et col. (112) et MASSRY et col. (80), ont montré que l'hypermagnésémie était également capable d'inhiber la sécrétion de parathormone et, d'après RADDE et col. (99), que cette inhibition était précédée d'une stimulation de celle de la thyrocalcitonine, contrairement aux premières observations de Mc INTYRE et col. (74).

Pour pouvoir mettre en évidence, au niveau rénal, l'existence d'une capacité maximum des mécanismes dont dépend la réabsorption du magnésium (TM Mg), on doit faire varier la magnésémie. Par cette variation, on peut aussi espérer induire des modifications dans les processus de transport des principaux électrolytes du fluide intratubulaire qui sont susceptibles d'être liés, d'une façon ou d'une autre, à celui du Mg. Inversement, compte tenu des relations étroites qui existent entre le métabolisme du Mg et celui du Ca ou du P, l'effet de l'élèvation plasmatique de l'un ou l'autre de ces deux éléments sur l'excrétion rénale du Mg devait être recherché.

Pour étudier les modalités d'excrétion urinaire du Mg, nous avons fait varier, après une période de contrôle destinée à définir les conditions initiales, la magnésémie, la phosphatémie ou la calcémie, en perfusant par voie intraveineuse des solutions contenant l'élément désiré, chaque animal étant ainsi son propre témoin. Pour écarter l'hypothèse, lors de l'interprétation des résultats, d'une différence systématique entre la localisation des sites de microponction avant et pendant la surcharge (microponctions "proximales" ou "distales" effectuées en des points plus ou moins proches des glomérules) les mêmes néphrons ont été ponctionnés, au même endroit, au cours de ces deux périodes selon la technique des recollections (24, 36).

Pour tester la réversibilité des phénomènes induits, les expériences ont été poursuivies après l'arrêt de la perfusion des solutions enrichies et après un temps de l'ordre de 30 minutes, les néphrons ont été recollectionnés une seconde fois.

II - METHODES ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES CLASSIQUES

La technique des microponctions tubulaires mise au point par RICHARDS et WALKER (103) consiste à prélever, au moyen de micropipettes, chez l'animal in vivo, des petits échantillons du fluide qui circule dans les néphrons situés à la surface du cortex. Associée à celle des clearances comparées développée par JOLIFFE et col. (58) et SHANNON et

SMITH (111), elle permet une localisation précise des mouvements nets d'eau et de solutes le long des tubules rénaux. Elle a fait l'objet de deux monographies récentes (108, 133) et nous nous contenterons d'en rappeler les caractéristiques essentielles.

A. Fabrication des micropipettes

Les micropipettes, dont le diamètre externe à la pointe est compris entre 5 et 7 μ, ont été fabriquées à partir de tubes capillaires en verre, préalablement pré-étirés, au moyen d'une microforge de Fonbrune ou d'un étireur automatique "I. S. A. I. ". Pour faciliter la pénétration dans la capsule rénale, leur extrémité a été biseautée par rôdage sur une pierre d'Arkansas. L'intérieur et l'extérieur de la pipette furent siliconés avec du rhodorsil (68) afin de rendre plus aisé le dépôt ultérieur des échantillons prélevés. La pointe fut ensuite remplie par de l'huile saturée d'eau destinée à empêcher tout contact entre l'air et les échantillons. Lors du traitement de ces échantillons nous avons utilisé des micropipettes à bulbe fabriquées à partir de micropipettes normales à la microforge de Fonbrune, en rétrécissant à une distance plus ou moins éloignée de la pointe, selon le volume requis, la lumière capillaire par simple chauffage. Le volume de ces pipettes, déterminé à l'aide de solutions radioactives d'activité connue, était compris entre 0,17 et 5 nanolitres.

B. Préparation des animaux

Les expériences ont été effectuées sur des rattes Wistar pesant environ 200 g., à jeûn depuis la veille. Les animaux anesthésiés par injection intrapéritonéale de nembutal (5 mg./100 g. de poids) furent ensuite disposés sur une table chauffante et maintenus à une température centrale de 37°C. Des doses additionnelles d'anesthésique (1 mg./100 g.) ont été administrées, par voie intraveineuse, en cours de préparation ou d'expérimentation lorsque l'animal présentait des signes de réveil. Immédiatement après l'anesthésie, une trachéotomie a été réalisée en prenant bien soin de ne pas léser la thyroïde.

Deux cathéters ont ensuite été introduits, l'un rempli de sérum physiologique dans la veine jugulaire droite, l'autre contenant du sérum physiologique hépariné (0,1 ml d'éparine pour 5 ml de sérum) (+) dans l'artère fémorale droite. Le rein gauche a été exposé selon la technique décrite par GOTTSCHALK et MYLLE (47) : une incision abdominale longitudinale médiane suivie d'une incision transversale sous costale gauche de la peau et des muscles a permis, une fois les viscères réclinées dans la partie droite de l'abdomen, de rendre directement accessible la face antérieure du rein qui fut dès cet instant et pendant toute la durée de l'expérience conservée sous une mince pellicule d'huile de vaseline. Pour atténuer la transmission des mouvements respiratoires, une "cuillère métallique" fixée à la table d'opération et qui s'appuie sur le plan musculaire dorsal, a été placée entre le rein et la coupole diaphragmatique, au-dessus des glandes surrénales selon la technique décrite par LECHENE et col. (68). Le recueil de l'urine définitive a été effectué par l'intermédiaire d'un cathéter introduit dans l'uretère gauche. Pour limiter les pertes d'eau par évaporation, l'abdomen de l'animal fut entouré, à l'exception du rein, d'une bande de gaze humide recouverte d'une bande de matière plastique imperméable (PARAFILM). Enfin, les animaux ont reçu, par voie intraveineuse, 1 cm^3 de sérum physiologique pour compenser les pertes hydriques survenues pendant la préparation.

Les rats furent ensuite placés sous un stéréomicroscope Zeiss, portant en dérivation une caméra de télévision reliée à un récepteur de contrôle et à un magnétoscope, le but de cet ensemble étant d'enregistrer toutes les phases de l'expérience. Le rein a été éclairé par l'intermédiaire d'un guide de lumière, formé de fibres optiques, relié à un arc au xénon. A l'extrémité du guide de lumière un anneau de plexiglass reposait délicatement sur le rein et supprimait les mouvements dus au pouls artériel. Un cathéter, solidaire de ce système et relié à un réservoir, assurait un écoulement d'huile continu sur la surface délimitée par l'anneau. Les microponctions furent effectuées dans cette partie protégée du rein.

(+) Liquemine Roche : 5 000 unités/ml.

C. Techniques de microponctions - Recollections

La technique des microponctions consiste à introduire, sous contrôle stéréomicroscopique (grossissement environ 100 fois), à l'aide d'un micromanipulateur de Fonbrune, une micropipette reliée par un tuyau de polyéthylène souple à une seringue, dans la lumière des néphrons situés à la surface du cortex et à y prélever des échantillons de fluide tubulaire. Pour ajuster le débit de ponction au débit de fluide intratubulaire, une gouttelette d'huile fut injectée par simple pression sur le piston de la seringue et maintenue immobile, par succion au moyen de cette seringue, en aval de la micropipette (ponctions "contrôlées"). Cette gouttelette évite en outre, dans le cas où les microponctions sont pratiquées dans le segment contourné distal des néphrons, de recueillir par voie rétrograde du fluide provenant des régions corticales des canaux collecteurs (ponctions "prélevées avec reflux"). Lorsqu'un volume suffisant (de 10 à 20 nl) de fluide tubulaire était prélevé, au bout d'un temps variant entre 45 secondes et 2 minutes selon la localisation proximale ou distale du point de microponction, la pointe de la micropipette fut retirée du tubule et immédiatement remplie par l'huile de vaseline qui recouvrait la surface du rein. Les échantillons recueillis ont été immédiatement déposés dans des verres de montre siliconés, sous huile saturée d'eau et traités le jour même pour éviter toute possibilité de transfert d'eau vers l'huile de vaseline pure.

Dans nos expériences, nous avons employé la technique des recollections décrite par CARONE (24) et DIRKS et col. (36). Elle consiste à ponctionner aux mêmes points les mêmes néphrons chez un animal soumis, au cours du temps, à des conditions expérimentales différentes. Ceci suppose donc que l'on puisse identifier de façon certaine les néphrons déjà ponctionnés une première fois et le site exact de cette ponction. Pour cela, avant le début de chaque expérience, un certain nombre de tubules ont été repérés et dessinés. Le choix de ces tubules fut déterminé en fonction de plusieurs critères : pour évaluer l'intensité des transferts survenant dans l'anse de Henlé, il était important de ponctionner dans les parties les plus éloignées des glomérules dans le cas des tubules contournés proximaux (TCP) et des canaux collecteurs dans celui des tubules contournés distaux (TCD). La présence des étoiles vasculaires que l'on peut observer à la surface du rein est en général associée à celle des parties

terminales des TCP et la forme des TCD diffère en fonction de l'éloignement des canaux collecteurs correspondants (69). En plus de ces premiers critères, l'orientation par rapport à l'axe de la pipette et la position spatiale vis-à-vis de certains néphrons dont les caractéristiques anatomiques (formes en U, en S, en Z, etc.) permettait une identification facile, furent déterminants dans le choix effectué. La qualité des recollections fut vérifiée ultérieurement par la restitution, sur un écran de télévision, des images enregistrées par le magnétoscope pendant la durée de l'expérience.

D. Déroulement d'une expérience

Les tubules une fois choisis et dessinés, les expériences furent réalisées selon le protocole illustré par la figure 1. Quatre séries expérimentales (Mg-I, Mg-Fe, P-I et Ca-I) caractérisées par l'élément utilisé pour créer la surcharge (Mg, P et Ca) et l'indicateur glomérulaire employé (ferrocyanure de sodium : Fe ; inuline - ^{3}H : I) furent effectuées. Chaque expérience a comporté trois périodes successives d'une durée égale à une heure et demie : une période témoin (1), une période de surcharge (2) et une période de retour vers les conditions initiales (3). Chacune de ces périodes fut à son tour divisée en trois parties égales dans le temps ; la première (équilibration) étant destinée à assurer un niveau plasmatique stable aux éléments contenus dans les solutions injectées et la seconde et la troisième consacrées aux prélèvements.

Le début de la période 1 fut marqué par l'injection, par voie intraveineuse, d'une dose initiale contenant l'indicateur glomérulaire (temps 0). Deux sortes d'indicateurs ont été utilisés lors de ces expériences (tableau 1) : d'une part le ferrocyanure de sodium $[Fe(CN)_6]Na_4$ et d'autre part l'inuline tritiée (+). Les doses injectées furent calculées pour amener le niveau plasmatique à la concentration de 2 m M/l de Fe ou 2 μCi/ml d'inuline - ^{3}H. Immédiatement après l'injection de la dose initiale les animaux reçurent, par perfusion continue par la veine jugulaire et à un débit variable selon la série expérimentale (mais constant pendant toute la durée de l'expérience), une solution A

(+) ^{3}H - Methoxy - inuline : New England Nuclear Corporation.

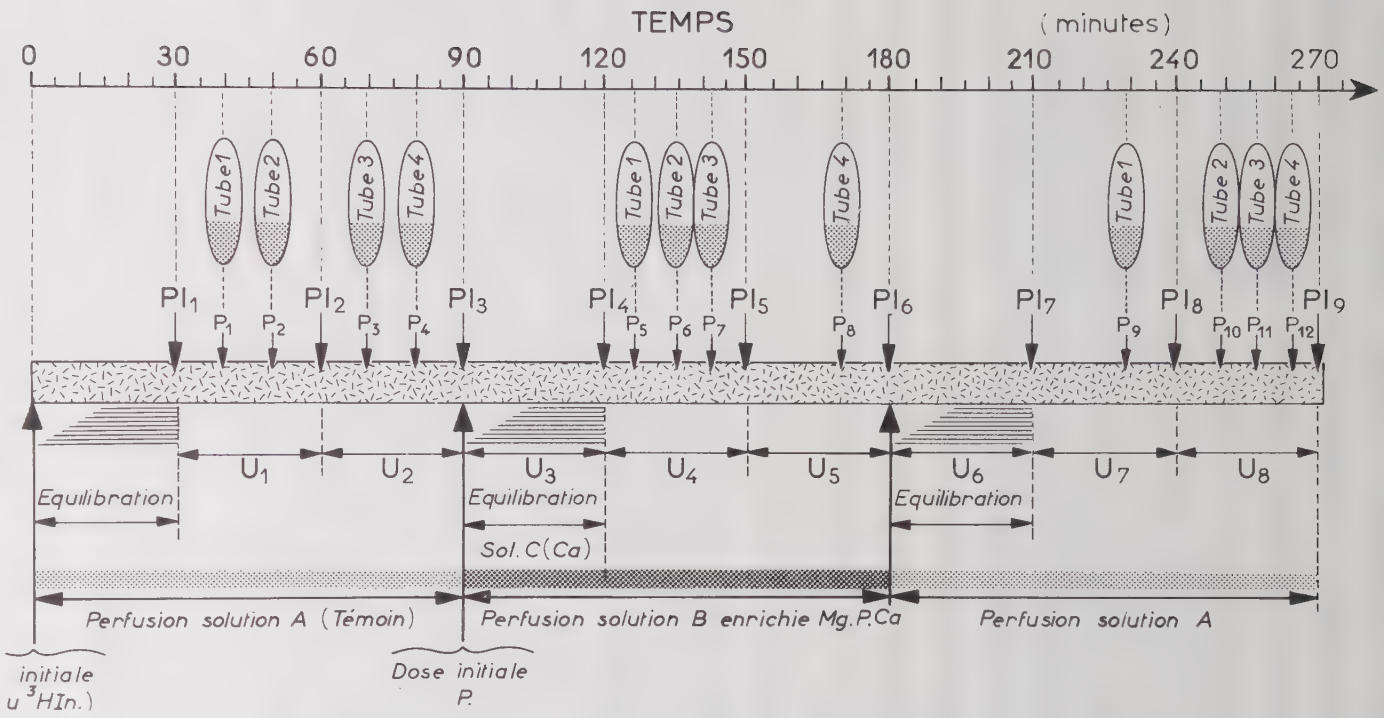

Fig. 1 - Protocole expérimental.

Dans chacune des trois périodes que comportent les expériences, des échantillons de plasma (Pl), de fluide tubulaire (P) et d'urine (U) ont été prélevés. L'emploi de la technique des recollections est mis en évidence par le numéro du néphron correspondans à chaque microponction.

contenant l'indicateur glomérulaire à une concentration telle que le niveau atteint par suite de l'injection initiale soit maintenu Après trente minutes d'équilibration le premier échantillon de sang Pl 1 (moins de 50 µl) fut prélevé au niveau de l'artère fémorale, recueilli sous huile dans un tube Beckman et immédiatement centrifugé. Cette opération a été répétée toutes les demi-heures jusqu'à la fin de l'expérience (Pl_9). L'urine fut collectée, dans l'intervalle de temps séparant deux prises de sang, dans des tubes à essai tarés contenant 200 µl d'eau distillée et simultanément la première série de microponctions fut effectuée. Au début de la seconde période, la solution A a été remplacée par une solution B enrichie en l'un des ions étudiés. Dans le cas du phosphore et du calcium, l'administration d'une dose initiale, soit injectée rapidement (P), soit perfusée (Ca), fut nécessaire pour atteindre un niveau plasmatique stable et suffisamment élevé pendant la partie prélèvement de la période de surcharge. La composition des solutions utilisées a été consignée dans le tableau I. Les mêmes néphrons qui avaient été ponctionnés au cours de la période 1 furent alors reponctionnés et aux mêmes endroits. Dans la dernière phase de l'expérience (période 3) la solution A fut de nouveau perfusée. Après un délai d'une demi-heure destiné à permettre à la concentration plasmatique de revenir vers des valeurs proches de celles du départ, les néphrons furent ponctionnés une troisième fois. Durant ces deux dernières périodes, des microponctions ont été également effectuées dans des tubules non ponctionnés pendant la période de contrôle. La pression artérielle de l'animal fut contrôlée, tout le temps que dura l'expérience, au moyen d'un manomètre électronique Telco.

E. Traitement des échantillons

Nous ne décrirons ici que les techniques analytiques classiquement utilisées dans le traitement des échantillons recueillis au cours des expériences de microponction, les déterminations effectuées au moyen d'une microsonde électronique feront l'objet de la seconde partie de ce chapitre. Dans tous les cas, les échantillons de microponction, de plasma et d'urine ont été traités en parallèle, le jour même de l'expérience.

a) Ultrafiltration des plasmas

Les protéines du plasma fixent en quantité importante le calcium et le magnésium et, à un moindre degré, le phosphore (13, 84, 119, 125, 126). La comparaison des concentrations de ces éléments dans le fluide intratubulaire, pratiquement dépourvu de protéines, ne pouvait donc être faite qu'avec des ultrafiltrats plasmatiques. Ceux-ci ont été obtenus au moyen d'un appareil à ultrafiltrer miniaturisé. Il se compose de deux disques de plexiglass, percés chacun de six trous en forme de cônes, qui peuvent être amenés en contact à l'aide d'un système de vis et d'écrous et qui s'insèrent dans un boitier métallique. L'étanchéité du système, une fois les membranes (Cuprophan, Technicon) placées entre les deux disques, l'axe des cônes de la partie supérieure et de la partie inférieure étant confondu, est assurée par une couronne vissée autour du bâti métallique qui repose par un léger rebord sur la face supérieure de l'ensemble de plexiglass (fig. 2). La surface utile à l'ultrafiltration dans cet appareil est inférieure à 1 mm^2.

Des quantités de l'ordre de 2 µl de plasma ont été prélevées dans des tubes Beckman contenant le sang centrifugé (paragraphe D) et placées sous huile sur la face inférieure de chaque membrane à ultrafiltrer. La face supérieure, également sous huile, fut observée à un grossissement de 49 fois (loupe binoculaire Leitz). L'application d'une pression d'azote égale à 0,5 kgf à l'intérieur du boitier, a permis de recueillir une cinquantaine de nanolitres d'ultrafiltrat, au bout de quelques minutes. Ces échantillons furent ensuite prélevés au moyen d'une micropipette contenant de l'huile saturée d'eau et manœuvrée par l'intermédiaire d'un micromanipulateur.

Pour déceler et pallier une certaine hétérogénéité du diamètre de leurs pores, les plasmas ont été ultrafiltrés en duplicate sur des morceaux de membrane différents.

b) Mesure des débits urinaires et tubulaires

Les débits urinaires ont été déterminés en divisant le poids de l'urine recueillie (dont la densité fut admise comme égale à celle de l'eau) par le temps de collecte. Ils sont exprimés en microlitres par minute (µl/mn). Les débits de ponctions ont été évalués en divisant par le temps de ponction le

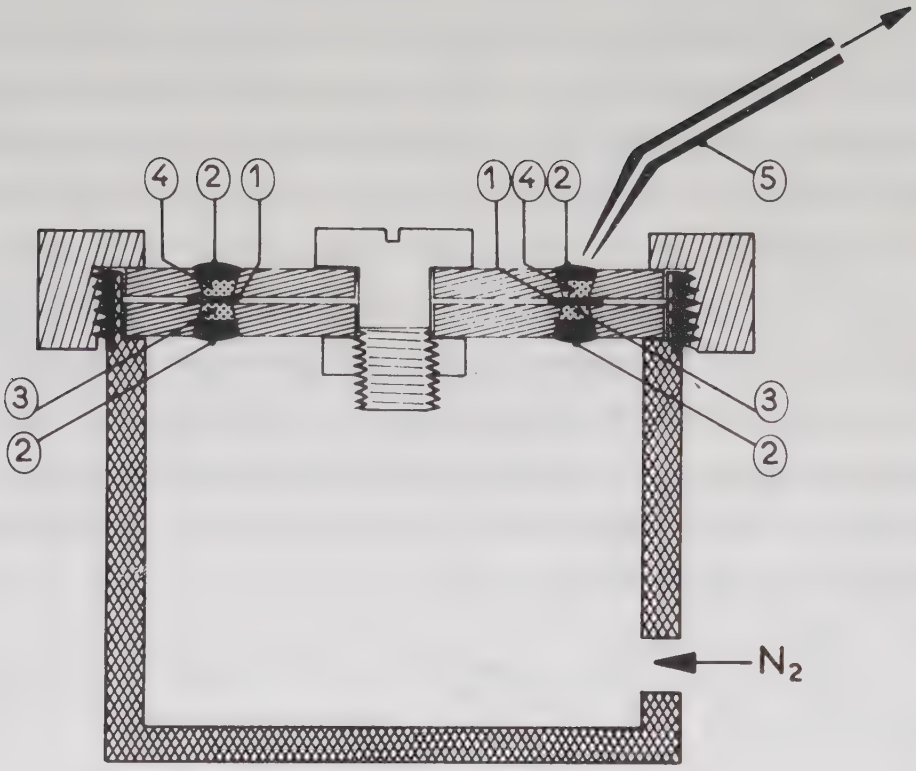

Fig. 2 : APPAREIL A ULTRAFILTRER (coupe transversale).

1 : membrane poreuse "Cuprophan" (épaisseur 10μ)
2 : huile saturée d'eau
3 : plasma contenant les protéines
4 : plasma ultrafiltré
5 : pipette de prélèvement dont la pointe est remplie d'huile

volume prélevé mesuré au moyen de micropipettes à bulbe préalablement calibrées. L'unité choisie pour exprimer ces résultats est le nanolitre par minute.

c) Pression osmotique

La pression osmotique des échantillons de ponction, de plasma et d'urine, a été déterminée sur des volumes inférieurs à 1 nl, par microcryométrie, à l'aide d'un appareil identique à celui décrit par RAMSAY et BROWN (100). Les résultats ont été exprimés en milliosmoles par litre (m Osm/1).

d) Mesure de la radioactivité

Cette mesure fut effectuée, dans les expériences où l'indicateur glomérulaire utilisé était l'inuline tritiée (séries MgI, Ca, P), au moyen d'un spectromètre à scintillation liquide TRI-CARB. PACKARD. Des volumes connus d'échantillons de ponction, de plasma, d'urine et de solution injectée (de l'ordre de quelques nanolitres pour les ponctions et de 500 nl pour l'urine et le plasma) furent déposés à l'aide de micropipettes calibrées dans des fioles en plastique contenant 10 ml de mélange de Bray modifié (18, 67). Les activités les plus faibles, obtenues dans les échantillons de microponction, donnèrent un signal égal à environ deux fois le bruit de fond. Le temps de comptage fut respectivement de 80 minutes (4 x 20) et de 10 minutes (2 x 5) pour les échantillons de ponction et ceux de plasma et d'urine.

e) Dosage du calcium total du plasma

Le calcium plasmatique total fut déterminé sur des volumes de 20 µl de plasma au moyen d'un spectrophotomètre de flamme NETHELER et HINZ. Les solutions de référence utilisées pour ce dosage contenaient du sodium et du potassium en concentration équivalente à celle du plasma. Les résultats obtenus ont été exprimés en millimoles par litre (m M/1).

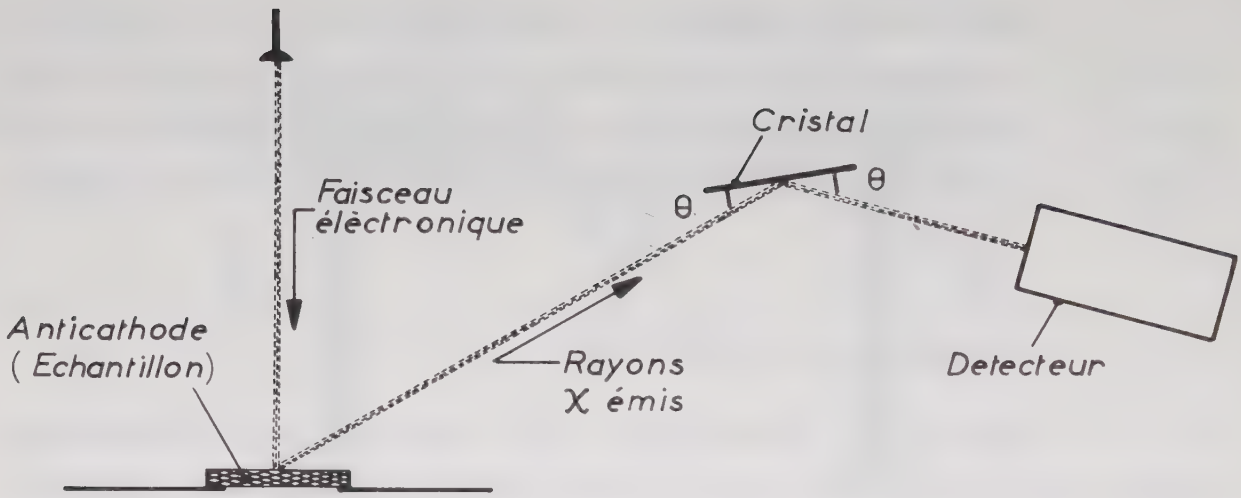

Fig. 3 : Principe général de l'analyse par rayon X.

Un faisceau électronique d'une certaine énergie arrive sur une anticathode. Les atomes sont excités et émettent des rayonnements X qui sont ensuite analysés.

III - ANALYSE QUANTITATIVE DES ELEMENTS INORGANIQUES PRESENTS DANS DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES LIQUIDES A L'AIDE D'UNE MICROSONDE ELECTRONIQUE DE CASTAING

Dans cette partie du chapitre consacré à la description des méthodes et des techniques, le principe général de fonctionnement d'une microsonde électronique sera tout d'abord exposé. La technique particulière utilisée dans l'application de dosage d'échantillons biologiques liquides et les performances obtenues seront ensuite développées.

A. Généralités sur la microsonde électronique

a) Principe de l'appareil

Le principe de l'analyse par microsonde électronique repose sur les propriétés des rayons X. Depuis MOSELEY on sait que chaque élément est caractérisé par un spectre de rayons X relativement simple. Sous l'impact d'un faisceau d'électrons une anticathode émet un rayonnement X contenant toutes les radiations caractéristiques des éléments qui la constituent et dont le seuil d'excitation est inférieur à la tension accélératrice du faisceau électronique incident. Une partie des radiations X émises est alors diffractée par un cristal dont la distance entre les plans réticulaires est connue. La longueur d'onde λ du rayonnement diffracté est donnée par la formule de BRAGG :

$$n\lambda = 2d \sin\theta$$

où θ est l'angle que forme le rayonnement incident avec le plan du cristal, d la distance entre les plans réticulaires et n l'ordre du spectre (en général égal à 1 dans la plupart des conditions expérimentales).

On discrimine ainsi la longueur d'onde caractéristique d'un des éléments constitutifs de l'anticathode. Le rayonnement diffracté est ensuite recueilli par un détecteur de type compteur proportionnel (fig. 3). Pour obtenir une analyse qualitative des éléments présents dans l'échantillon qui tient lieu d'anticathode, il suffit d'identifier les longueurs d'onde des rayons X émis, l'état de combinaison chimique entre ces éléments n'ayant pratiquement

aucune influence sur la nature de l'émission. L'intensité des rayonnements X étant, dans des conditions bien définies, proportionnelle au nombre d'atomes excités, l'analyse quantitative est effectuée en comparant le signal donné par un élément pur de masse connue et celui obtenu pour le même élément dans l'échantillon en analyse. Soit $(I_A)C$ l'intensité de l'émission produite par l'élément de référence A de concentration B, et $(I_A)i$ celle obtenue par bombardement de l'anticathode. La concentration de A dans l'anticathode sera donnée, avec une bonne approximation (+), par la formule :

$$CA = \frac{(IA)\,i}{(IA)\,c} \times B$$

L'idée de l'application de ce principe de dosage à l'échelle microscopique revient à CASTAING et GUINIER (25) et à BOROVSKII (17). La première réalisation pratique fut l'œuvre de CASTAING (26) en 1951 à l'occasion de son travail de thèse. La microsonde électronique qu'il construisit alors ne diffère que par des détails de celle que nous avons utilisée au cours de nos expériences et que nous allons maintenant décrire.

b) La microsonde électronique CAMECA MS 46

Elle est composée de quatre parties qui sont : 1) l'optique électronique - 2) le compartiment échantillon - 3) le système de repérage de l'échantillon - 4) les spectromètres à rayon X (fig. 4).

1) l'optique électronique

Le système optique utilisé a pour but de créer une sonde (source virtuelle d'électrons, image d'une source électronique réelle) de diamètre donné, transportant un courant d'intensité maximum. Les électrons émis par un filament de tungstène porté à haute température sont ensuite accélérés par une différence de potentiel. Le faisceau électronique est focalisé sur

(+) Différentes corrections sont en général introduites pour améliorer la précision des mesures : ainsi on peut tenir compte de l'effet de la diffraction des électrons dans l'échantillon, des variations de volume d'atomes excités avec le numéro atomique, des phénomènes de fluorescence, etc.

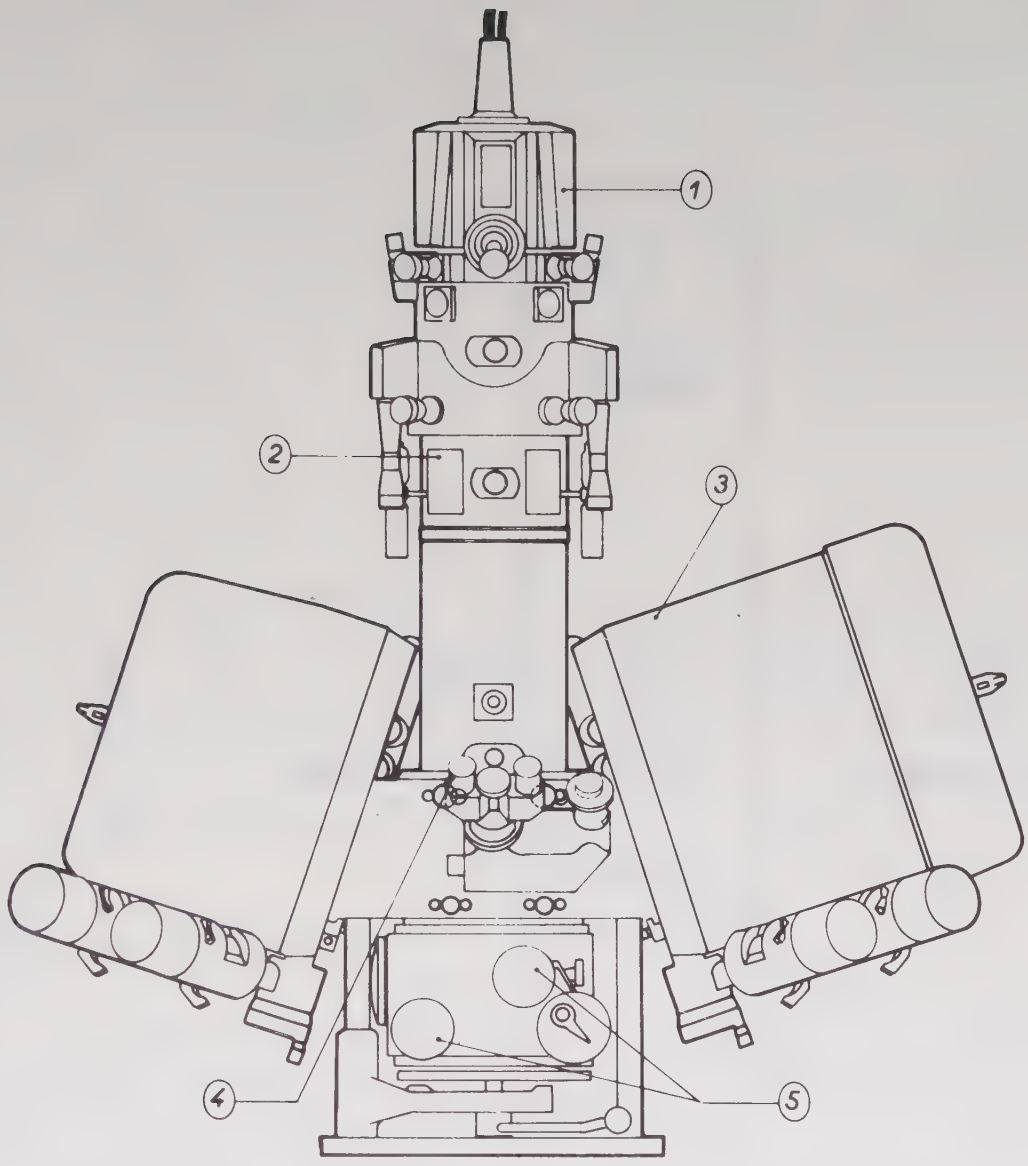

Fig. 4 - Microsonde électronique CAMECA MS46 (vue d'ensemble)

1 : Emplacement du canon à électrons
2 : Corps de sonde contenant l'optique électronique
3 : Spectromètre à rayon X
4 : Système optique de repérage de l'échantillon
5 : Commandes de la position de l'échantillon en X et Y

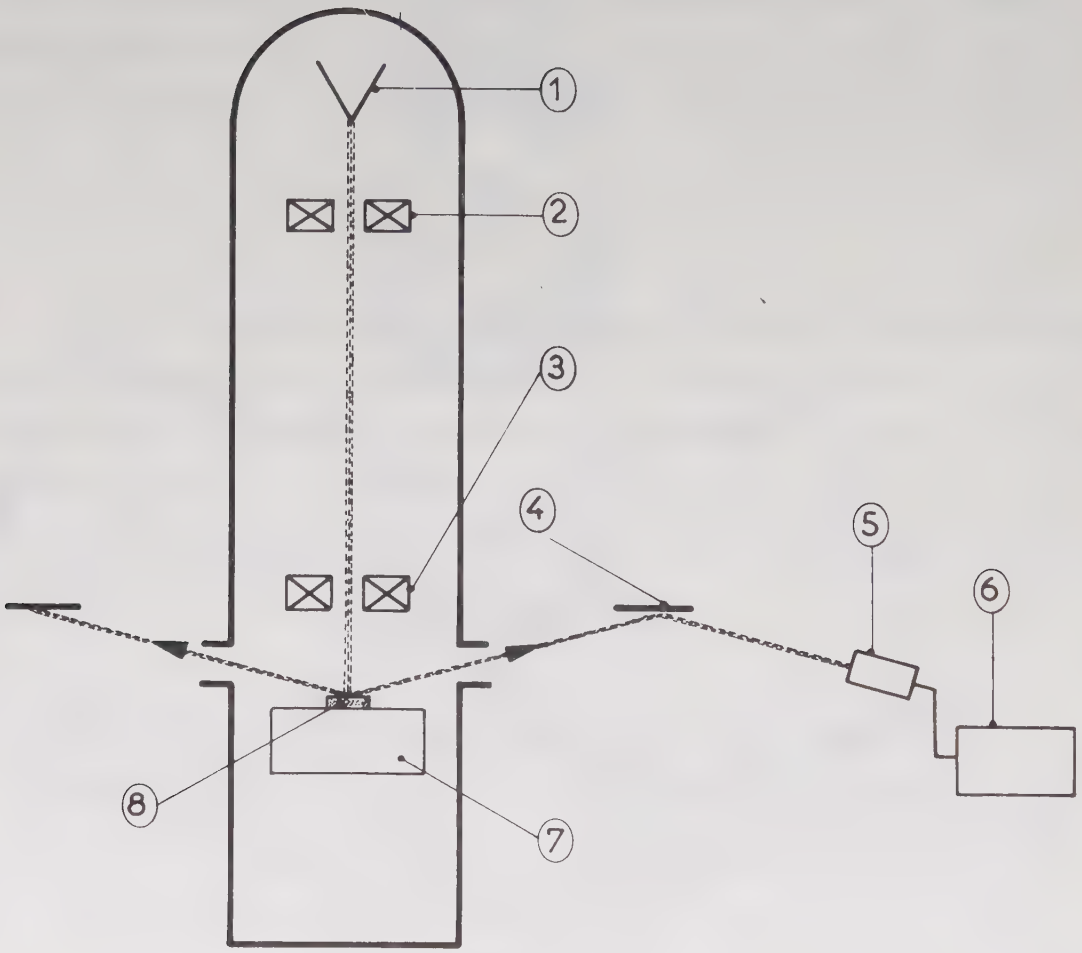

Fig. 5 - Microsonde électronique (Coupe transversale)

1 : Canon à électrons - 2 : Lentille réductrice 1 (Condenseur) - 3 : Lentille réductrice Z (Objet) - 4 : Spectromètre rayons X - 5 : Compteur proportionnel - 6 : Amplificateur - 7 : Porte échantillons mobile X, Y, Z - 8 : Echantillon.

l'échantillon après son passage au travers de deux lentilles réductrices électromagnétiques (fig. 5). Le diamètre de la sonde obtenu, dans des conditions de focalisation maximale est voisin de 1 μ.

2) le compartiment échantillon

Pour permettre le positionnement des échantillons sous la sonde on dispose d'un chariot porte-échantillons que l'on déplace manuellement suivant les axes X, Y et Z. L'amplitude maximale des mouvements est respectivement de 20, 50 et 1,5 mm dans les trois directions.

3) l'optique de repérage

L'emplacement de la sonde et la position des échantillons sont contrôlés par l'observation au moyen d'un système optique (microscope Nachet) à un grossissement de 400 fois. La présence d'un réticule dans l'un des oculaires permet de mesurer le diamètre de la sonde et de l'ajuster à celui des échantillons.

4) spectromètres à rayon X

La microsonde MS 46 est équipée de quatre spectromètres à rayon X constitués par des cristaux courbes (P.E.T., KAP, Quartz 1011) qui ónt la propriété de toujours se trouver, moyennant l'intervention d'un mécanisme approprié, dans des conditions de focalisation exacte par rapport à la source de rayons X quel que soit l'angle d'incidence du faisceau.

c) Sensibilité de la méthode

Dans les circonstances les plus favorables, telles que peuvent en rencontrer les métallurgistes et les minéralogistes, qui en furent pendant longtemps les seuls utilisateurs, la microsonde électronique permet de déceler des masses comprises entre 10^{-15} et 10^{-16} g (pour la plupart des éléments) à l'intérieur d'un volume de 1 micron cube.

B. Dosage d'échantillons biologiques liquides

a) Introduction

Depuis ces dix dernières années la microsonde électronique a été utilisée dans certains domaines de la biologie et principalement dans la détermination du contenu en éléments minéraux des tissus, par exemple le tissu osseux (20), celui des parois artérielles (48) ou encore celui des poumons (104). En physiologie rénale, GALLE (42) montra, en 1965, qu'après l'administration de sels de plomb à un animal, on retrouvait une concentration importante de fer dans les cellules du tubule proximal. Récemment, INGRAM et HOGBEN (56) pensèrent à utiliser la microsonde électronique pour doser les éléments inorganiques contenus dans les échantillons biologiques liquides et plus particulièrement ceux obtenus par la technique des microponctions, mais les difficultés techniques qu'ils rencontrèrent empêchèrent le développement de la méthode. Une étude systématique fut alors entreprise, dans notre laboratoire par MOREL et ROINEL (87), pour résoudre ce problème, qui a abouti à la définition de conditions standard d'utilisation que nous allons maintenant décrire.

b) Conditions d'utilisation

1) Généralités

L'analyse ne peut évidemment se faire sur les échantillons liquides eux-mêmes qui sont donc lyophilisés avant d'être introduits dans la microsonde. Les dépôts secs obtenus doivent se présenter sous la forme de disques de petits cristaux dont les dimensions maximales, diamètre et épaisseur, sont dictées par les performances de la sonde (diamètre de défocalisation maximum et pouvoir de pénétration des électrons). Le choix des conditions de comptage et la linéarité de la réponse en fonction de la concentration seront ainsi fonction de la taille et de l'aspect de ces dépôts.

2) Conditions d'obtention des dépôts - Support

α - Choix du support

Sous l'impact du faisceau électronique, les raies caractéristiques du matériau qui sert de support aux échantillons sont également émises et constituent un bruit de fond. Ce support doit donc être d'une grande pureté chimique et ne pas contenir, dans les limites de sensibilité de la microsonde,

des quantités détectables de l'un des éléments à mesurer. Il doit de plus être bon conducteur de la chaleur et de l'électricité et, si c'est un métal, posséder un numéro atomique faible qui permettra d'obtenir un bruit de fond de bas niveau. Il doit enfin, pour que la totalité de l'échantillon soit excitée par des électrons de même énergie, être parfaitement plan donc susceptible d'être poli. De l'Aluminium et du Beryllium qui répondent à toutes ces conditions, c'est le second qui a été adopté comme support, en dépit des inconvénients que présente sa manipulation (toxicité 1 $\mu g/m^3$) car les bruits de fond qu'il émet sont considérablement inférieurs à ceux de l'Aluminium.

β - Conditions de comptage

Le choix des conditions de comptage est dicté par la taille et la constitution des dépôts secs. Les dimensions maximum que peuvent atteindre ces dépôts sont de 150 μ de diamètre et de 2 μ d'épaisseur. Elles sont dictées par les performances de la sonde : le diamètre maximum du faisceau électronique que l'on peut utiliser est de 200 μ car, au-delà, on défocalise les spectromètres et l'on capte des raies parasites. Il faut de plus que la totalité de l'échantillon soit excitée. Aussi, si l'on augmente l'épaisseur du dépôt, il faut accroître la tension accélératrice mais dans le même temps la sensibilité diminue car le maximum d'excitation X d'un élément égale, dans la plupart des cas, deux ou trois fois sa tension d'ionisation. Enfin, pour limiter les phénomènes d'absorption électronique, le dépôt doit être constitué par une couche uniforme de cristaux microscopiques.

On peut estimer qu'un nanolitre de fluide biologique (intratubulaire, plasmatique, urinaire) ou des solutions standard que nous utilisons, laisse après évaporation environ 2 % de poids sec ce qui, supposant une répartition uniforme, représente un carré de 100 μ de côté et de 2 μ d'épaisseur. Pour exciter la totalité d'un tel échantillon, il faut employer une tension accélératrice de 20 Kv (87), bien plus élevée que les potentiels d'ionisation des raies K_α des éléments à mesurer (20 fois plus élevée dans le cas du sodium) ce qui entraîne une diminution de sensibilité de la méthode. Pour éviter la détérioration des échantillons par effet JOULE, l'intensité est fixée à 200 nA. Dans ces conditions, on ne note pas de perte sensible du taux de comptage

de l'échantillon même pour des temps de bombardement supérieurs à cinq minutes. Pour tous les éléments, la position des spectromètres est réglée sur la raie $K\alpha_1$. Le diamètre de la sonde, quand plusieurs échantillons sont déposés sur le bloc de beryllium, est ajusté de façon à couvrir dans sa totalité le dépôt représentant la plus grande surface.

γ - Dépôt des échantillons

Les échantillons sont déposés sur le bloc, préalablement poli, au moyen d'une micropipette à bulbe dont le volume est inférieur à 1 nanolitre (en général 0,4 nl). Pour obtenir un tapis de petits cristaux (moins de 2 μ) il faut éviter tout processus d'évaporation. Deux techniques ont été successivement utilisées : la première (87) consistait à refroidir le bloc par effet Pelletier et à le maintenir à une température voisine de + 8°C. Elle présentait l'inconvénient d'être tributaire de certains paramètres difficilement contrôlables (courants d'air par exemple) surtout pendant les quelques heures que durent les opérations de dépôt et a été abandonnée au profit de la seconde. Dans celle-ci (71), les échantillons sont déposés sous huile de vaseline saturée d'eau. Quand tous les dépôts ont été effectués, l'huile qui recouvre le bloc est lavée par du xylène puis du chloroforme. Une fine pellicule de ce solvant recouvre toujours les échantillons liquides jusqu'au moment de la congélation obtenue par apposition du support sur de la glace carbonique et toute évaporation est ainsi prévenue. Le beryllium est alors placé dans un lyophilisateur (+) et les gouttelettes sublimées à sec, pendant plusieurs heures, à une température voisine de -40°C et sous un vide supérieur à 10^{-2} torr.

3) Performances

α - Spécifité

Chaque élément possède un spectre qui lui est propre et la spécifité du dosage est théoriquement absolue. Dans la pratique, elle dépend de la qualité et des conditions de travail des spectromètres. L'absence d'interférence entre les différents éléments à mesurer a été vérifiée pour les conditions précédemment définies (tableau II).

(+) lyophilisateur "Piccolo": Sublivac R. P. - SERAIL (France)

TABLEAU II : Interférences entre éléments déposés.

Elément	$M_1 \pm \sigma_1$	$M_2 \pm \sigma_2$	t	P
Ca $K\alpha_1$	705 ± 39	732 ± 37	0,93	0,35
K $K\alpha_1$	625 ± 51	645 ± 36	0,80	0,45
P $K\alpha_1$	139 ± 12	146 ± 15	0,73	0,5

Des interférences éventuelles ont été recherchées en comparant les taux de comptage obtenus pour un élément donné en présence ou en l'absence d'un large excès d'autres éléments.

Solution 1 : $CaCl_2$ 1 mM/l, KH_2PO_4 1 mM/l.

Solution 2 : Ibid., plus NaCl 100 mM/l.

M_1 moyenne obtenue sur quatre échantillons de 0,4 nl de la solution 1.

M_2 moyenne obtenue sur quatre échantillons de 0,4 nl de la solution 2.

Conditions :

HT = 15 kV ; I = 300 nA ; Ø = 150 µ.
Durée des mesures : 30 s.

(D'après MOREL et ROINEL)

TABLEAU III :

Sensibilité du dosage à la Microsonde

Elément	P	Mg	Na	Cl	Fe	Ca	K
Bruit de fond (100 sec.)	161	492	230	450	632	1142	750
Signal/1mM (100 sec.)	2 26	320	230	330	1 078	1169	1210
Signal/bruit fond	1,40	0,65	1,00	0,73	1,71	1,02	1,61

Volume déposé : 0,17 nl. *Concentration des Solutions : 10^{-3} M*
Tension accélératrice : 20 kV. *Intensité : 200 nA.*
Diamètre de la Sonde : 100 µ *Temps de comptage : 100 sec.*
Exp. : 17-4-69

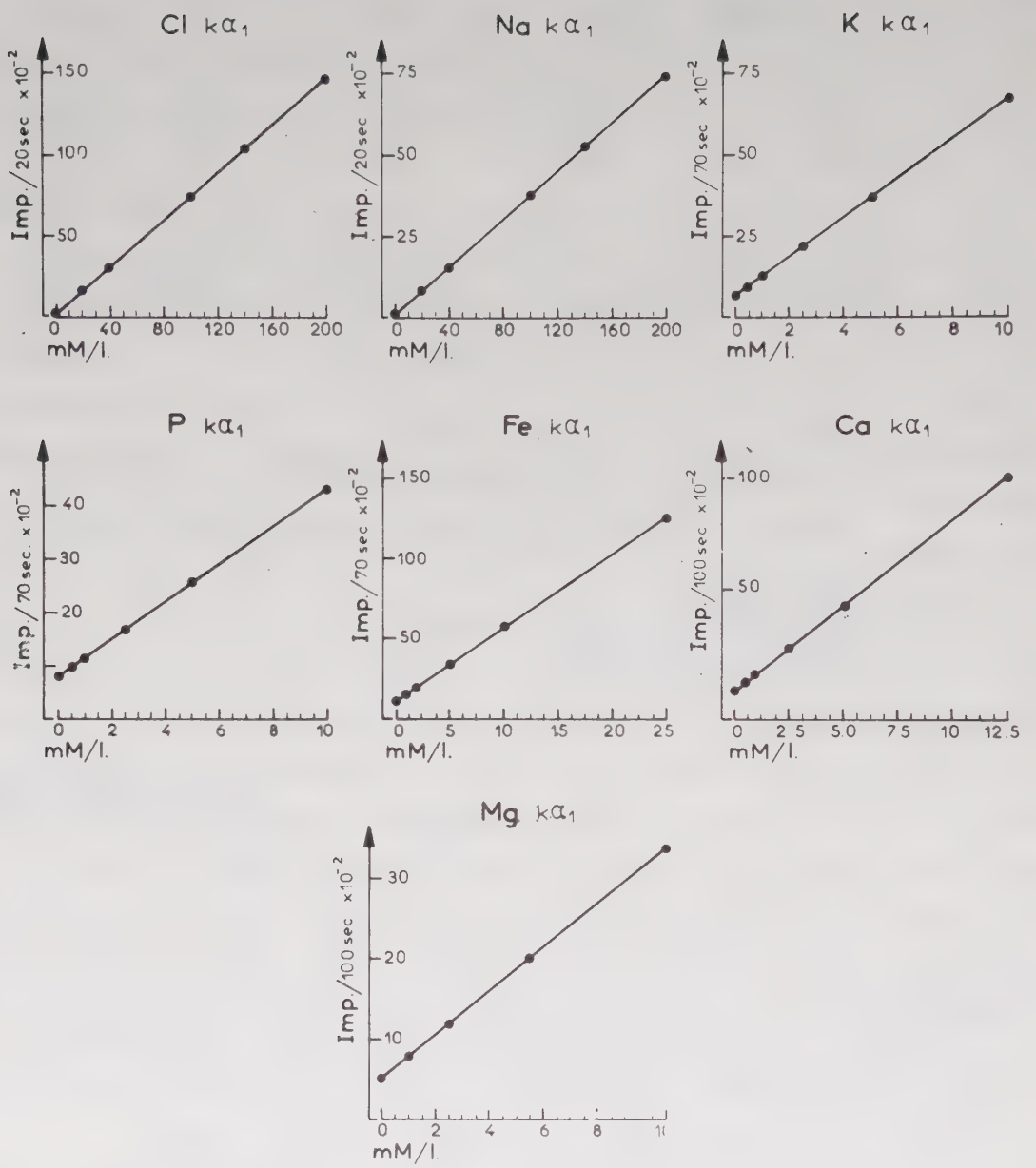

Fig. 6 - Droites d'Etalonnage obtenues avec des Solutions de concentration croissante. Ordonnée : nombre d'impulsions comptées pour les différents éléments analysés. Abscisse : concentration de l'élément dans la solution de référence (0,4 nl ; 20 KV ; 200 nA ; $\bar{\Phi}$ 120 µ).

β - Sensibilité

Comme nous l'avons signalé, une sonde focalisée sur 1 μ^3 permet de déceler des quantités de l'ordre de 10^{-15}g. Dans nos conditions d'utilisation, la sensibilité est notablement inférieure par suite : a) de la tension accélératrice appliquée - b) de la diminution du rapport signal sur bruit de fond, ce dernier variant de façon inversement proportionnelle au carré du diamètre du faisceau. Le tableau III donne les valeurs prises par le rapport signal sur bruit de fond de 7 éléments après dépôt de 1.7×10^{-13} µM dans les conditions standard indiquées.

γ - Reproductibilité

La reproductibilité des mesures dépend d'une part des fluctuations statistiques intervenant dans le taux de comptage et d'autre part de la reproductibilité des échantillons. Sur ce dernier point, plusieurs facteurs sont susceptibles d'affecter le taux de comptage. Ce sont en particulier - 1) la reproductibilité des prélèvements - 2) le diamètre et l'épaisseur du dépôt obtenu après lyophilisation - 3) la taille et la répartition des cristaux dans ces dépôts. Dans les conditions normales de fonctionnement, la déviation standard des mesures effectuées à l'aide de la microsonde est inférieure à 5 % de la moyenne. La reproductibilité des mesures est donc très bonne.

δ - Linéarité de la réponse

La linéarité de la réponse est fonction de la tension accélératrice : pour des tensions faibles et des échantillons de concentration élevée, le faisceau électronique n'excite pas la totalité du dépôt et la perte de linéarité provient d'un phénomène d'absorption électronique. Pour une tension adaptée à l'épaisseur du dépôt, la réponse est linéairement proportionnelle à la concentration, dans de larges limites comme le montre la figure 6.

C. Traitement des échantillons recueillis au cours des expériences de microponction

Les échantillons de fluide tubulaire, d'ultrafiltrat plasmatique, d'urine diluée et de solution standard ont été déposés, le jour même de l'expérience, sous huile, en cinq exemplaires sur le bloc de beryllium. Le volume des pipettes à bulbes utilisées a été compris entre 0,40 et 0,17 nl.

Selon les dimensions des dépôts secs obtenus après lyophilisation, la tension accélératrice choisie a varié d'une expérience à l'autre, de 20 à 17 et même 15 Kv. La valeur adoptée, pour une expérience, a toujours satisfait aux exigences de sensibilité maximale et de linéarité de réponse en fonction de la concentration des solutions de référence. L'intensité du faisceau électronique fut de 200 nA et son diamètre ajusté à celui des dépôts de plus grande taille. Dans chacun des dépôts secs on a déterminé les concentrations en Na, CI, K, Ca, Mg, P et Fe quand il était employé comme indicateur glomérulaire dans l'expérience biologique. Chaque élément mesuré a été compté successivement deux fois pendant des temps variables (10 à 100 secondes) suivant sa nature et sa concentration. Pour déceler et pouvoir corriger une perte du taux de comptage par suite du déplacement des spectromètres, un échantillon pris comme référence a été compté à intervalles de temps fixes. Pour une perte de taux de comptage supérieure à 5 %, la position du spectromètre a été réajustée de telle façon que les valeurs initiales soient retrouvées. Pour éviter une erreur systématique dans la comparaison des concentrations plasmatiques et tubulaires, due à cette dérive possible des spectromètres, les comptages effectués sur les échantillons de ponction ont été encadrés par ceux des plasmas correspondants. Les résultats obtenus ont été exprimés en mM/1.

IV - DISCUSSION DES TECHNIQUES - CALCULS ET EXPRESSION DES RESULTATS

A. Validité des techniques

a) Ultrafiltration

L'ultrafiltration des plasmas telle que nous l'avons effectuée n'est certainement pas identique à celle qui intervient au niveau des glomérules. En premier lieu, les membranes que l'on utilise n'ont rien de commun avec le "filtre" glomérulaire. Elles offrent souvent, de plus, l'inconvénient de présenter des pores de diamètre inégal d'un point à l'autre de leur surface. Pour cette raison, nous avons été amené à ultrafiltrer chaque plasma 2 fois et à écarter les valeurs obtenues quand elles différaient de plus de 10 %.

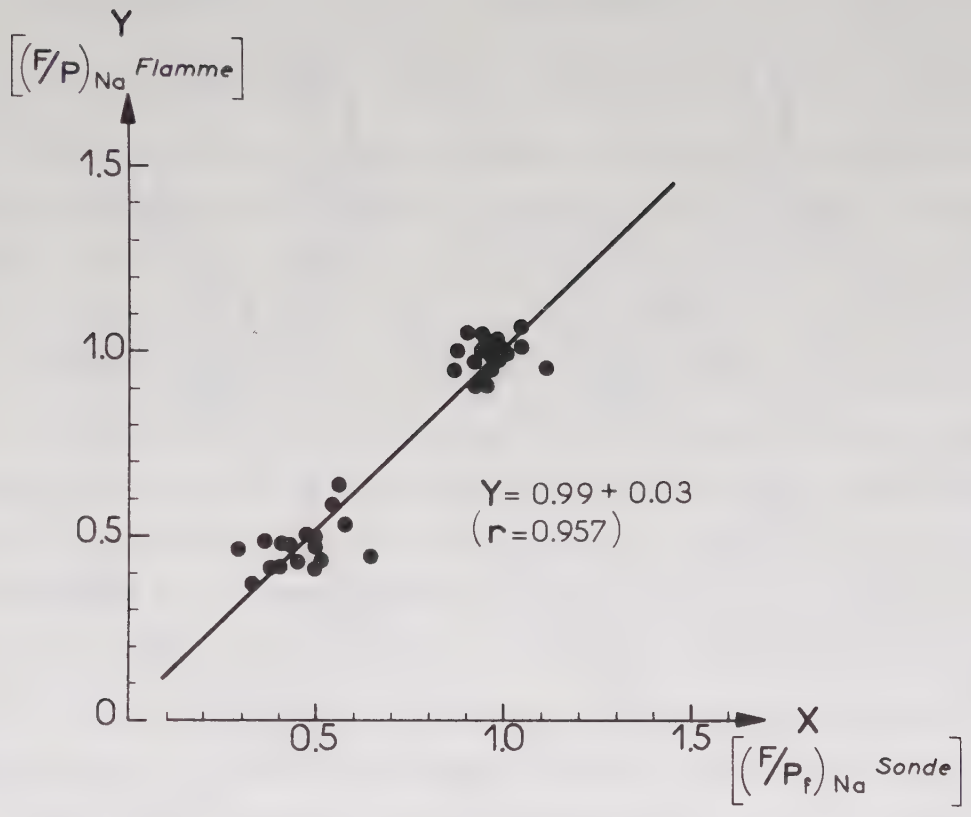

Fig. 7 - Comparaison des résultats obtenus par microspectrophotométrie de flamme et analyse à la microsonde électronique.(F/P)Na : rapport des concentrations de Sodium dans les échantillons de fluide tubulaire à celles correspondantes du plasma.

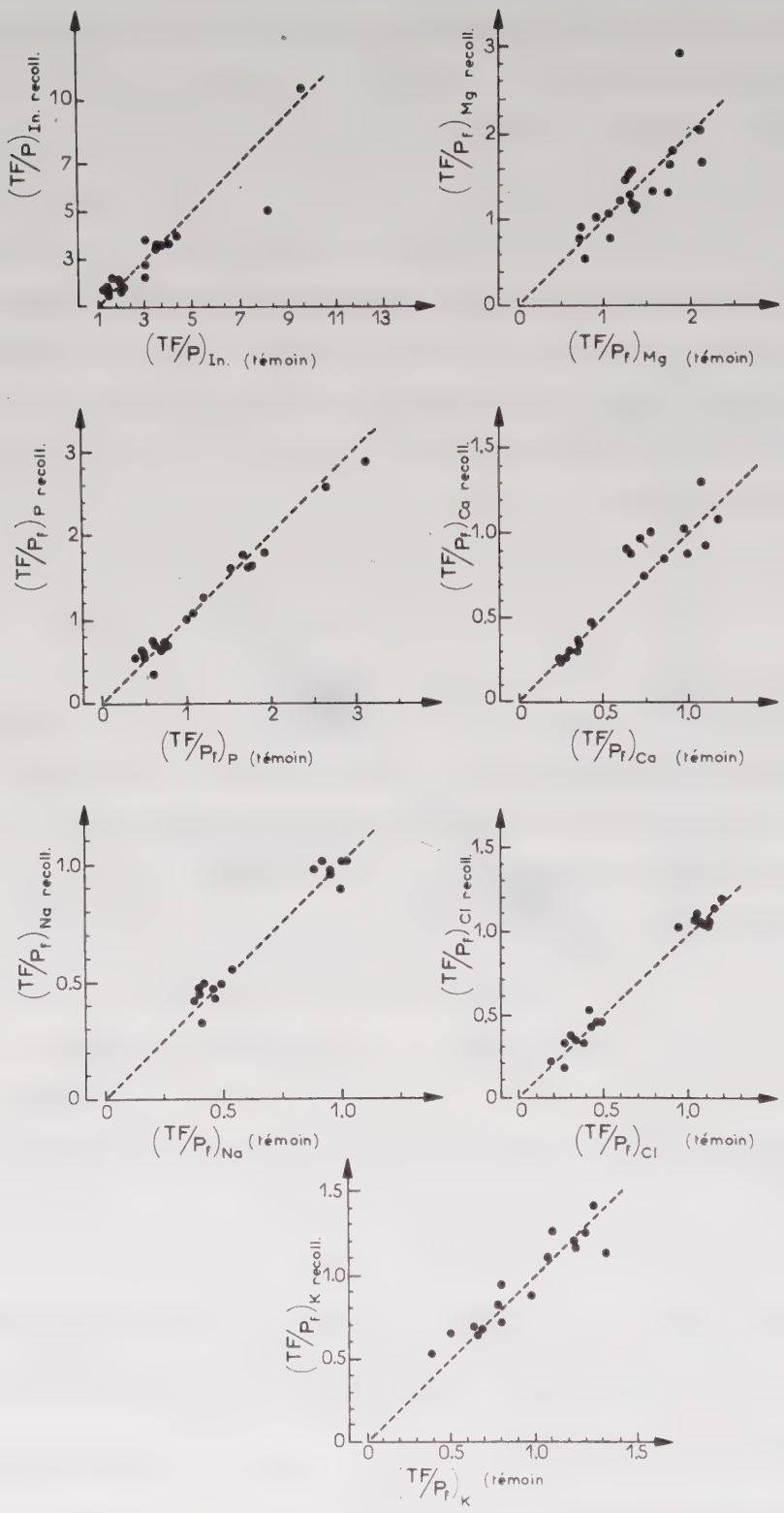

Fig. 8 - Validité de la technique des recollections.

Deux ponctions ont été réalisées au même point sans modification des conditions expérimentales. Abscisse : (TF/P) de la première ponction. Ordonnée : (TF/P) de la recollection. La ligne droite en pointillé représente la 1ère bissectrice.

D'autre part, ni le pH des échantillons, ni la température n'ont été contrôlés au cours de nos expériences et ces deux paramètres sont susceptibles de faire varier la fraction du calcium ultrafiltrable (84, 95 , 119). Malgré l'intervention de tous ces facteurs, l'erreur introduite dans ces conditions semble être de faible importance puisque les microponctions réalisées dans les glomérules chez les mammifères (66), donnent des résultats tout à fait comparables aux nôtres et à ceux de la littérature en général.

b) Déterminations à l'aide d'une microsonde électronique

La mise au point des conditions standard d'utilisation de la microsonde électronique a été effectuée en déposant des solutions de référence dépourvues de molécules organiques. La validité de l'application au dosage d'échantillons biologiques a été vérifiée en comparant, sur des échantillons recueillis par microponction, les résultats qu'elle permet d'obtenir à ceux fournis par une méthode d'analyse classique. Les concentrations en sodium et potassium du fluide tubulaire proximal ou distal ont donc été déterminées, dans les mêmes échantillons, au moyen de la microsonde et du microspectrophotomètre de flamme de MOREL et LUCARAIN (86). La figure 7 illustre les résultats obtenus pour le premier cation. La pente de la droite de régression linéaire est égale à l'unité et l'ordonnée à l'origine est pratiquement égale à 0. Il en est de même pour le second comme le montre l'équation de la droite qui relie le K mesuré à la sonde à celui mesuré par spectrophotométrie : K flamme = 1.00 K sonde + 0.06 (N = 30).

c) Utilisation du ferrocyanure comme indicateur glomérulaire

Au cours d'un travail préliminaire (MOREL, ROINEL, LE GRIMELLEC - 88), trois animaux ont été perfusés par des solutions contenant à la fois du ferrocyanure de sodium et de l'inuline tritiée. Les concentrations relatives, rapportées à celles des plasmas, de ces composés dans les mêmes échantillons de microponction, proximaux et distaux, ont été déterminées soit à la microsonde électronique (Fe), soit au compteur à scintillation (3H - inuline) et comparées. L'équation qui relie la concentration relative du fer à

celle de l'inuline ($(TF/P)_{In} = 0.97\ (TF/P)\ Fe + 0.08$, $r = 0.988$ $N = 41$) montre qu'il n'existe aucune différence entre le comportement tubulaire de ces deux substances. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par HANSEN (49), BAINES, BAINES et DE ROUFFIGNAC (11) et DE ROUFFIGNAC, DEISS et BONVALET (107) et confirment que le ferrocyanure de sodium se comporte comme une substance glomérulaire chez les rongeurs, tout au moins quand sa concentration plasmatique est supérieure à 1 mM/l (11), comme c'était le cas lors de nos expériences.

d) Recollections

Le principe de la technique des recollections suppose que, lorsque l'état physiologique de l'animal reste identique, il en est de même de la composition du fluide intratubulaire des néphrons déjà ponctionnés. Sur la figure 8 sont représentées les concentrations relatives des éléments mesurés dans des échantillons prélevés à des temps différents, dans les mêmes néphrons, et dans des conditions expérimentales inchangées dans l'intervalle qui sépare les prélèvements. La répartition des points de part et d'autre de la première bissectrice et les pentes des droites de régression non significativement différentes de l'unité ainsi obtenues, montrent que quel que soit le site de la première ponction, proximal ou distal, ou l'élément considéré : inuline, magnésium, phosphore, calcium, sodium, chlore ou potassium, la concentration relative est identique à celle de la recollection.

B. Calculs et expression des résultats

Les résultats ont été exprimés sous la forme de concentrations en millimoles par litre (mM/l) ou de rapport de concentrations comme on a l'habitude de le faire pour les expériences de microponction. Les concentrations des échantillons de fluide tubulaire (TF) ou d'urine définitive (U) ont été divisées par celles des plasmas ultrafiltrés (P_f) ou non (P). Les valeurs plasmatiques au moment des microponctions ou du recueil de l'urine ont été calculées par interpolation linéaire.

L'estimation du taux de filtration glomérulaire individuelle des néphrons ponctionnés a été effectuée à partir du débit de ponction $\dot{V}$ en appliquant la formule :

$$SGFR = (TF/P)_{I.G} \times \dot{V}$$

où I.G représente l'indicateur glomérulaire. Elles sont exprimées en nanolitres par minute.

Les débits fractionnaires, ou clearances relatives encore appelées excrétions fractionnaires, qui représentent le pourcentage de la quantité filtrée d'une substance donnée X restant au point de prélèvement, furent déterminés à partir de la formule :

$$F.E\ (x) = (TF/Pf) \times /(TF/P)\ I.G$$

pour les échantillons de microponction, et :

$$F.E\ (x) = (U/Pf) \times /(U/P)\ I.G$$

pour l'urine urétérale.

Les quantités absolues réabsorbées entre le glomérule et le point de ponction (R T) ont été calculées individuellement en multipliant la fraction de la quantité filtrée qui a été réabsorbée par la concentration plasmatique interpolée :

$$R\,T_i = (\,I - (TF/Pf) \times /(TF/P)_{I.G}) \times (P)_f \times \frac{SGFR}{SGFR}$$

L'unité correspondante est la picomole par nanolitre de filtrat glomérulaire. Pour l'ensemble de la population des microponctions, proximales ou distales, les valeurs moyennes des clearances relatives et la filtration glomérulaire du rein tout entier ont été utilisées selon la formule :

$$RT_T = (1 - \overline{m}\ F.E) \times \overline{m}\ (P_f) \times GFR$$

De même, la quantité absolue réabsorbée de l'élément x par l'ensemble du rein (RU), exprimée en millimoles par minute et par rein (mM/min/rein) est égale à :

$$R.U = (1 - (U/P_f) \times /(U/P)_{I.G}) \times (P_f) \times GFR$$

Dans le calcul des moyennes, les microponctions prélevées avec reflux et les échantillons d'urine recueillis pendant les périodes d'équilibration ont été écartés. Le degré de signification statistique des différences observées entre les moyennes, a été testé sur les couples de ponctions appareillées en comparant à 0 l'écart obtenu selon la méthode décrite par SNEDECOR (1) (x). Le calcul des corrélations entre les différents paramètres mesurés a été effectué au centre de calcul électronique du CHU - Pitié - Salpêtrière.

(+) SNEDECOR, G. W.
Iowa State Univ. Press, 1956 : Statistical Methods.

AVANT PROPOS AUX CHAPITRES II ET III

Les deux chapitres qui suivent seront consacrés à l'étude de l'excrétion urinaire du magnésium et également du phosphore et du calcium. Le comportement tubulaire du magnésium sera d'abord défini chez les animaux non diurétiques, placés dans des conditions physiologiques normales, puis lorsque la magnésémie est élevée artificiellement par perfusion d'une solution enrichie. Les effets d'une telle surcharge sur les fonctions rénales globales (débit urinaire, filtration glomérulaire, clearances) et sur les processus tubulaires de l'excrétion du calcium et du phosphore, seront ensuite exposés. La comparaison des résultats obtenus en présence d'inuline tritiée ou de ferrocyanure de sodium permettra d'évaluer l'influence de ce composé sur les phénomènes de réabsorption ou de sécrétion le long des néphrons.

x

x x

CHAPITRE II

COMPORTEMENT TUBULAIRE DU MAGNESIUM

Dans ce chapitre sont présentés les résultats de dix-huit expériences réalisées chez les animaux placés dans des conditions normales ou l'hypermagnésémie ou enfin l'hypomagnésémie, par suite des surcharges en phosphore et en calcium. Chez le rat à magnésémie normale, 10 % du magnésium filtré par les glomérules se retrouvent dans l'urine urétérale. Des 90 % réabsorbés, 20 le sont le long du tubule proximal, 64 lors du trajet du fluide dans l'anse de Henlé et 6 dans la partie terminale des néphrons (tubule contourné distal + canal collecteur). Ce dernier chiffre pourrait en réalité correspondre à une réabsorption plus importante compensée en partie par une sécrétion le long des canaux collecteurs. Pendant l'hypermagnésémie, environ 60 % du Mg filtré sont excrétés et on observe une saturation partielle des mécanismes de transport situés dans l'anse de Henlé et une sécrétion très importante dans la partie terminale des néphrons. L'effet de la surcharge en phosphore ne se manifeste qu'après un temps de latence supérieur à une heure et se traduit essentiellement par une augmentation de la réabsorption proximale du Mg qui devient sensiblement isotonique. Le caractère de cette action est compatible avec l'hypothèse d'une intervention de la parathormone. Par contre, dans le cas de la surcharge par le calcium, l'augmentation de l'excrétion urinaire du Mg résulte probablement d'une action directe de ce cation au niveau de l'anse de Henlé et le long des tubules distaux et des canaux collecteurs. L'utilisation du ferrocyanure de sodium comme indicateur glomérulaire qui entraîne une diminution de la réabsorption du Mg dans l'anse de Henlé, l'augmente dans la dernière partie des néphrons. La formation de complexe de ferrocyanure de magnésium qui pourrait intervenir à un certain niveau dans les tubules ne permet pas d'expliquer l'ensemble des phénomènes observés.

Les résultats des expériences de clearance, de diurèse interrompue et de microponction réalisées chez le chien, ont abouti à un certain nombre de données contradictoires, tant pour la localisation du segment qui réabsorbe le plus le Mg (21, 91, 109, 128) et l'existence de processus sécrétoire (12, 19, 44, 61, 91, 129) dans une certaine partie du néphron, que pour la réalité d'une capacité de transport maximum du rein tout entier pour ce cation (78, 109, 128). Chez le rat, la possibilité d'une sécrétion par le néphron avancée par AVERILL et HEATON (10) n'a pas été retrouvée par ALFREDSON et WALSER (5) et les seules données que l'on possède sur le comportement tubulaire du Mg résultent d'une expérience préliminaire effectuée par MOREL, ROINEL et LE GRIMELLEC (88). Nous avons donc poursuivi cette étude en recherchant les modifications dans ce comportement qui pouvaient résulter de conditions expérimentales très différentes.

I. EXCRETION DU MAGNESIUM CHEZ LE RAT DANS DES CONDITIONS NORMALES

La période de contrôle (période 1) commune aux 18 expériences a permis de définir les modalités d'excrétion du magnésium chez le rat placé dans des conditions normales. Néanmoins, les résultats obtenus en présence de ferrocyanure (5 animaux) ont été singularisés afin de détecter l'action éventuelle de ce composé sur les mécanismes de réabsorption tubulaire.

A. Protocole expérimental

Le protocole expérimental et la nature des solutions injectées ont été indiqués dans le premier chapitre, nous nous contenterons de les rappeler brièvement. Les tubules à ponctionner ayant été dessinés, les animaux reçurent, par voie intraveineuse, une dose initiale de 100 µM de ferrocyanure de sodium ou 100 µCi d'inuline tritiée, destinée à assurer un niveau plasmatique détectable à l'indicateur glomérulaire. Afin de maintenir ce niveau, une dose de soutien fut alors perfusée, immédiatement après et pendant toute la durée de l'expérience. Il s'agissait dans le cas de treize des animaux, de sérum

physiologique contenant de l'inuline ^{3}-H à une concentration telle qu'ils en recevaient 4 µCi par minute, quel que soit le débit de perfusion (20 ou 50 µl/mn selon la série expérimentale). Pour les cinq rats restants, la constance du niveau plasmatique du fer fut assurée par la perfusion, à un débit de 50 µl/mn, d'une solution de ferrocyanure de sodium à 100 mM/l. Après une période d'équilibration de trente minutes, deux périodes de clearance, d'une demi-heure chacune, ont été effectuées. Les microponctions furent pratiquées pendant le temps de recueil de l'urine.

B. Résultats

a) Plasmas

Les valeurs moyennes du magnésium plasmatique ultrafiltrable, pour les quatre groupes expérimentaux, sont consignées dans le tableau IV. Les séries Mg-I et Mg-F étaient composées chacune de 5 rats alors que les deux dernières (P et Ca) n'en comportaient que 4. De l'examen de ce tableau il ressort que, dans les conditions normales, la magnésémie est une constante bien régulée voisine de 0.50 mM/l.

b) Fluide tubulaire

Les résultats obtenus à partir de 184 microponctions, dont 107 pratiquées dans les tubules contournés proximaux (TCP) et 77 dans les tubules contournés distaux (TCD), sont illustrés par la figure 9 et consignés dans le tableau V. Pour cette figure, comme pour toutes celles représentant les données individuelles obtenues par microponction, nous avons porté l'évolution du (TF/P_f) de l'électrolyte étudié en fonction du pourcentage du débit de filtration restant au point de ponction. Cette variable qui correspond à une localisation fonctionnelle le long du néphron a été calculée en multipliant par 100 l'inverse de la valeur prise par le rapport (TF/P) de l'indicateur glomérulaire. Elle est donc égale à $(1 - (TF/P)_{I.G.}) \times 100$.

1) Tubule proximal

La plupart des microponctions ont été effectuées volontairement dans le dernier tiers du TCP accessible. Les valeurs moyennes du $(TF/P_f)Fe$

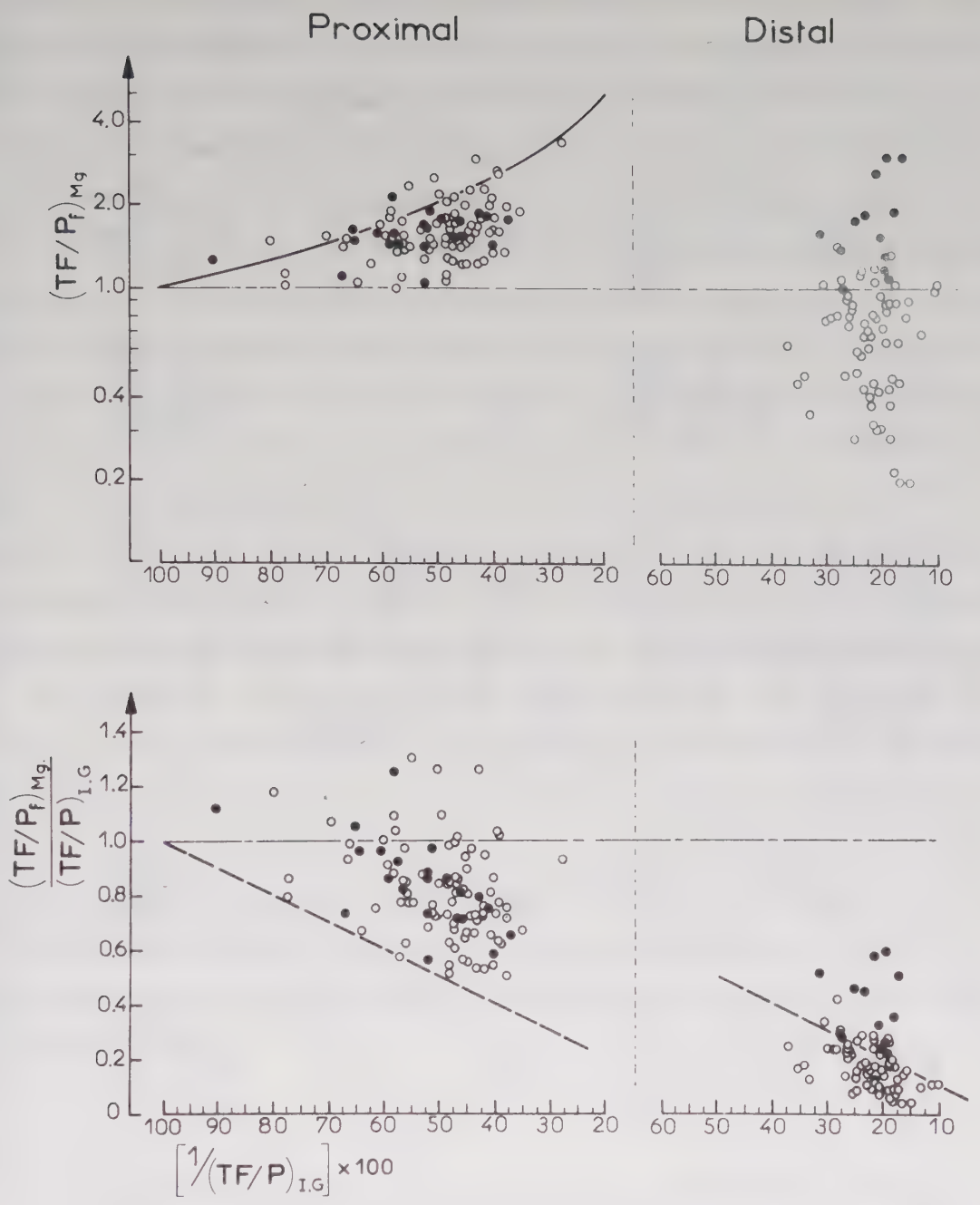

Fig. 9 - Comportement tubulaire du magnésium chez le rat (Magnésémie normale). En abscisse est porté le pourcentage de filtrat restant au point de ponction. En ordonnée, dans la partie supérieure, le $(TF/P_f)Mg$ et dans la partie inférieure le débit relatif $(TF/P_f)Mg / (TF/P)I.G.$ La courbe en trait plein représente le comportement proximal d'une substance glomérulaire. Celle en pointillée, celui d'un élément réabsorbé de façon isotonique.

● - Série Mg-F
o - Séries MgI - Ca - P
I. G. = Indicateur Glomérulaire

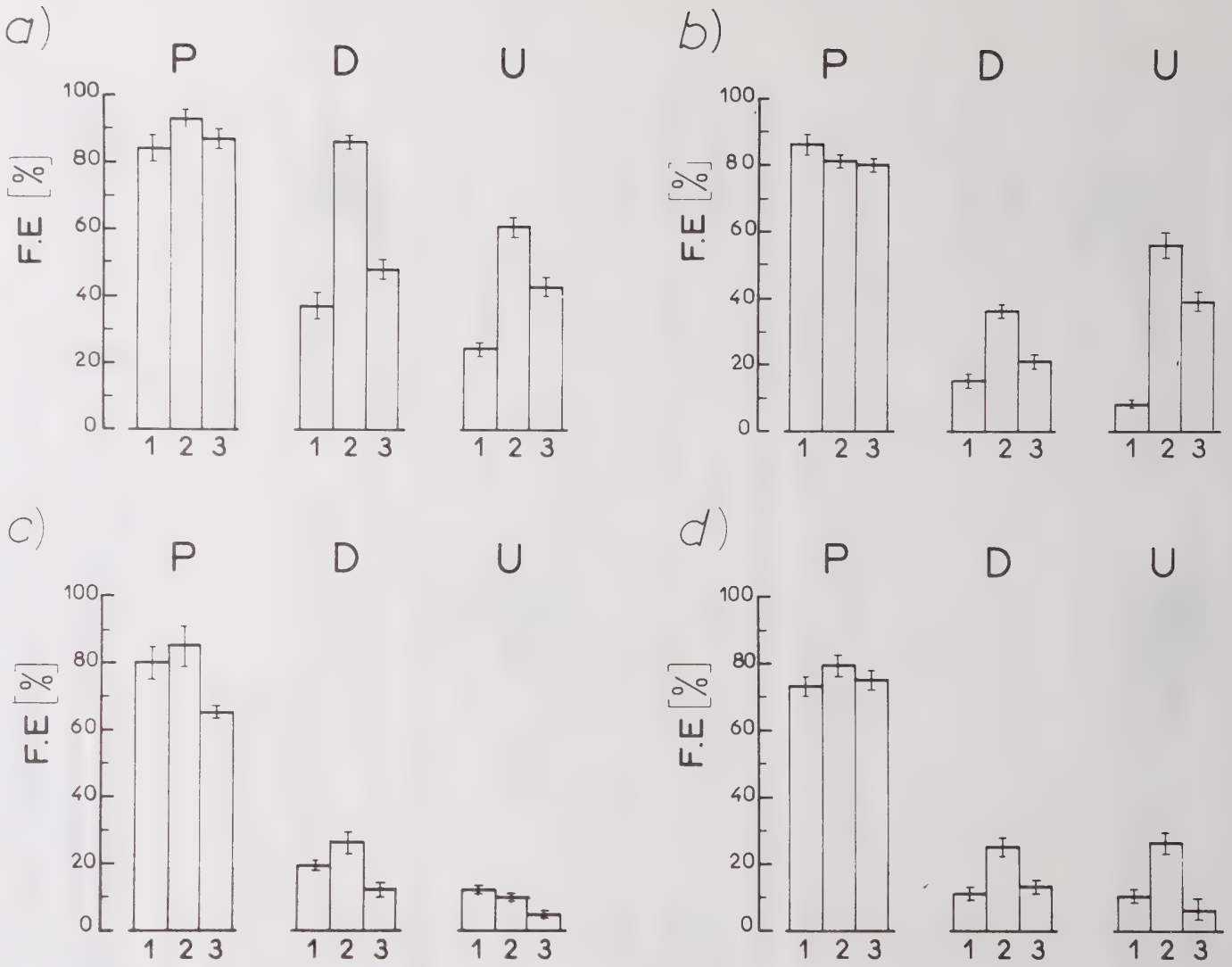

Fig. 10 - Excrétion fractionnaire du Magnésium en différents points du néphron chez des animaux soumis à diverses conditions expérimentales.
F. E. = Excrétion fractionnaire = Débit relatif = clearance relative
P = Proximal ; D = Distal ; U = Urine urétérale
1 = Période contrôle ; 2 = Surcharge ; 3 = Retour aux conditions initiales
a) Série MgF ; b) Mg-I ; c) P ; d) Ca.

dans la série MgF et des $(TF/P)_{In}$ dans chacune des trois autres séries sont proches de 2, ce qui signifie qu'environ la moitié du fluide filtré par les glomérules a été réabsorbé au point de ponction. Si l'on groupe les données obtenues pendant la 1ère période chez les animaux Mg I, Ca et P qui sont placés dans des conditions comparables (même indicateur glomérulaire et même composition de la solution de perfusion), le (TF/P) de l'inuline est égal à 2,13 $\pm$ 0.04 (N = 84). La concentration du magnésium dans ces mêmes échantillons est, à de rares exceptions près, toujours supérieure à celle de l'ultrafiltrat plasmatique au même instant et les rapports $(TF/P_f)Mg$ sont supérieurs à l'unité. Dans chacune des séries, la valeur moyenne est plus grande que 1,5 et significativement différente de l'unité. Le $(TF/P_f)Mg$ de l'ensemble des prélèvements effectués dans les groupes Mg I, Ca et P est alors de 1,67 $\pm$ 0.05 (N = 85). En dépit de la dispersion relativement faible des points de microponction le long du TCP, il existe une corrélation hautement significative entre le (TF/P) de l'inuline et celui du magnésium ($r = 0.55$; $N = 83$; $P < 0.001$) et ces deux éléments qui suivent donc une évolution parallèle dans ce segment des néphrons. La présence de ferrocyanure de sodium supprime cette corrélation ($r = 0.40$; $N = 22$). La fraction du Mg filtré qui est encore présente au point de ponction, illustrée par la partie inférieure de la figure 9 pour les données individuelles et par la figure 10 pour les valeurs moyennes, est de l'ordre de 80 % dans chacune des séries. Pour l'ensemble des microponctions réalisées en présence d'inuline, elle est de 0,80 $\pm$ 0.02 (N = 83).

2) Tubule distal

Le plus souvent, les microponctions ont été effectuées dans la partie initiale des tubules distaux et les valeurs moyennes des (TF/P) de l'indicateur glomérulaire sont voisines de 5 dans chacun des groupes (tableau V). Le (TF/P) de l'inuline pour les séries Mg I, Ca et P est égal, quant à lui, à 4,79 $\pm$ 0.17 (N = 64). En l'absence de ferrocyanure de sodium, la concentration du magnésium est dans la majorité des cas inférieure à celle du plasma au même moment et le $(TF/P_f)Mg$ moyen est égal à 0.70 $\pm$ 0.04 (N = 64). La présence de ce polyanion se traduit par une augmentation très significative de ce rapport qui atteint une valeur de 1.78 $\pm$ 0.19 (N = 13). Les débits relatifs correspondants sont de 0.16 $\pm$ 0.01 (N = 63) et 0.39 $\pm$ 0.04 (N = 13). La

comparaison de ces résultats avec ceux obtenus à la fin du TCP montre que chez les animaux de la série Mg I et ceux de la série MgF, 64% et 45% du Mg filtré sont réabsorbés lors du trajet du fluide intratubulaire dans l'anse de Henlé. Il n'existe aucune corrélation entre le (TF/P) de l'indicateur glomérulaire et celui du Mg à la sortie de cette structure.

c) Urine urétérale

Les résultats se rapportant à l'urine urétérale sont consignés dans le tableau VI et illustrés par la figure 9. Le débit urinaire dans les groupes Mg I, P et Ca est de l'ordre de 3 µl/mn/rein et les animaux peuvent donc être considérés comme non diurétiques. La filtration glomérulaire est sensiblement constante et égale à 1 ml/mn/rein/ Les valeurs de la clearance relative du magnésium montrent que chez des rats dans des conditions de magnésémie normale, environ 10% du Mg filtré par les glomérules se retrouvent dans l'urine définitive. Par comparaison avec le pourcentage observé à l'entrée du tubule distal, on voit que 6% du filtrat sont donc encore réabsorbés dans la partie terminale des néphrons (TCD + canaux collecteurs). La présence de ferrocyanure augmente considérablement le débit urinaire qui passe à 12 µl/mn/rein mais ne modifie pas significativement la filtration glomérulaire (GFR = 0.96 $\pm$ 0.04 ml/mn/rein N = 11). Par contre, elle favorise l'excrétion du magnésium dont la clearance relative devient égale à 24%. La réabsorption terminale dans ces conditions est double (12%) de celle des animaux non diurétiques.

C. DISCUSSION

Dans une monographie récente sur le métabolisme du magnésium, WALSER (127) rapporte que la valeur plasmatique totale de ce cation est comprise chez le rat, selon les auteurs, entre 0,67 (93) et 1,5 (134) millimoles par litre. Si l'on admet que, comme chez l'homme, la fraction ultrafiltrable est voisine de 68% (126), la concentration dans l'ultrafiltrat varie donc de 0.45 à 1.02 mM/l. Cependant, comme pour chacun des auteurs la magnésémie reste relativement constante d'un individu à l'autre, il semble probable que les différences enregistrées sont imputables aux techniques de

dosage utilisées. Le développement de la technique de détermination quantitative des cations divalents par absorption atomique a permis de restreindre considérablement l'écart entre les valeurs extrêmes de la magnésémie, et les travaux récents effectués aussi bien chez le rat (10, 35, 55, 97, 99) que chez le chien (21, 78, 128) la fixent entre 0,45 et 0,60 mM/l (concentration dans l'ultrafiltrat). Les résultats obtenus ici au moyen d'une nouvelle méthode analytique se situent dans cet intervalle de variation.

Chez le chien, WESSOW et LAULER (130) et MURDAUCH et ROBINSON (91) sur la base de résultats d'expériences de diurèse interrompue placèrent le site majeur de réabsorption du Mg dans la partie proximale du néphron distal. Les mêmes données furent interprétées par SAMIY et col. (109) comme étant la conséquence d'un comportement tubulaire identique à celui du sodium qui est réabsorbé de façon isoosmotique le long du TCP. Cette hypothèse, renforcée par les expériences de KUPFER et KOSOVSKY (64), MASSRY et col. (77, 78, 79), COBURN et col. (31, 32), a été vérifiée récemment par BRUNETTE et col. (21) et WEN et col. (128) par la technique des microponctions tubulaires. Ces auteurs ont en effet trouvé que, chez le chien non diurétique, la valeur prise par le rapport $(TF/P_f)Mg$ reste sensiblement égale à 1 tout le long du tubule contourné proximal accessible. Le comportement tubulaire de ce cation apparaît comme étant très différent chez le rat non diurétique puisque les résultats présentés ici, qui confirment ceux obtenus au cours d'une expérience préliminaire (88), montrent que la réabsorption de cet élément est très faible dans cette partie du néphron. Un tel comportement est exceptionnel et ne ressemble à aucun de celui des électrolytes principaux du plasma et se rapprocherait plutôt de celui de l'urée (133). La formation de complexe avec des anions ou polyanions organiques, dans le fluide tubulaire, ne semble pas pouvoir être invoquée, les expériences de microperfusion réalisées depuis, dans notre laboratoire, par MURAYAMA et col. (90) avec des solutions inorganiques conduisant aux mêmes résultats.

Dans onze des néphrons ponctionnés, la quantité de magnésium mesurée est supérieure à celle qui a été filtrée. Ces échantillons ont été prélevés dans quatre des treize expériences et il n'est pas exclu que cette observation résulte soit d'une surestimation de la concentration du fluide tubu-

laire, soit au contraire d'une sous-estimation de celle de l'ultrafiltrat plasmatique. Cependant, les recollections pratiquées dans quatre de ces mêmes néphrons dans des conditions d'hyper ou d'hypomagnésémie donneront de nouveau un débit résiduel supérieur à l'unité. Cette reproductibilité, quoique partielle, permet également d'envisager que, comme chez le chien (44, 91, 109), il existe chez le rat un flux unidirectionnel dirigé des capillaires péritubulaires vers la lumière du segment proximal du néphron. La nature du mécanisme mis en jeu serait alors nécessairement active par suite de la faible différence de potentiel (-3mV) enregistrée au travers de cette structure.

En l'absence de ferrocyanure, les résultats, dans le segment distal, sont comparables à ceux obtenus par WEN, EVANSON et DIRKS chez le chien (128). La dispersion des valeurs individuelles, que l'on retrouve également dans leur travail, n'est pas seulement due au fait que les concentrations sont parfois très faibles et approchent les limites de sensibilité des méthodes de dosage (ce qui, dans le cas de l'utilisation de la microsonde, se traduit par une augmentation relative de la fluctuation statistique du signal émis), puisqu'en présence de ferrocyanure où elles sont beaucoup plus élevées et équivalentes à celles rencontrées dans le TCP, elle existe toujours. Elle résulte probablement plus des différences anatomiques et fonctionnelles qui existent entre les néphrons (105) et se manifestent par de larges variations à l'entrée du tubule distal. Quoiqu'il en soit, la concentration du fluide tubulaire dans ce segment est significativement inférieure à celle du plasma et l'abaissement de cette concentration entre la fin du TCP et le début du distal est la conséquence de la réabsorption très importante qui survient dans l'anse de Henlé. Le mécanisme par lequel elle s'effectue est certainement actif puisqu'elle intervient à la fois contre un gradient de concentration et contre un gradient électrique (133). Compte tenu de ce que l'on connaît sur le comportement du sodium, il semble probable que cette réabsorption se place au niveau du segment ascendant de l'anse.

En l'absence de ferrocyanure de sodium environ 10 % du magnésium filtré sont excrétés. Cette valeur, tout à fait comparable à celle décrite chez le chien dans des conditions de diurèse identique (21, 128), est légère-

ment supérieure à celle que l'on rencontre habituellement chez l'homme (28, 52). La comparaison avec les résultats obtenus à l'entrée du tubule distal montre que, selon la série expérimentale, de 3 à 8 % du Mg filtré sont encore réabsorbés dans la partie terminale des néphrons. Dans quinze microponctions distales pratiquées dans de bonnes conditions et dans les trois, exclues dans le calcul des moyennes, prélevées avec "reflux" (chapitre I, paragraphe 2) les valeurs des débits résiduels sont inférieures à celles des urines correspondantes. La localisation précoce de nos ponctions ne permet pas de connaître l'évolution de cette variable le long du TCD mais, s'il est le siège d'une réabsorption même de faible importance, cette observation pourrait traduire l'aptitude des canaux collecteurs à secréter le magnésium. Il est également possible, compte tenu des différences physiologiques qui existent entre néphrons superficiels, moyens et juxtamédullaires (11, 105, 106, 107), que dans ces deux dernières populations la réabsorption de ce cation soit inférieure.

L'action du ferrocyanure de sodium sur la réabsorption du magnésium se manifeste surtout dans la partie du néphron postérieure au tubule proximal. Cependant, dans ce dernier segment où les (TF/P_f) du fer et du Mg sont indépendants, il existe une corrélation positive très significative ($r = 0.85$ $N = 22$) entre les concentrations de ces éléments, de même qu'il en existe une mais moins bonne, entre celle du Mg et le (TF/P_f) Fe ($r = 0.58$ $N = 28$). Les concentrations de ce cation le long du TCP dépendent donc plus de celles du ferrocyanure que des mouvements nets d'eau. Cette observation est également valable à l'entrée du tubule distal où les (TF/P_f)Mg sont sensiblement supérieurs à ceux obtenus chez les animaux non diurétiques. L'inhibition relative de la réabsorption dans l'a· que produit le ferrocyanure pourrait donc résulter de la formation de xes, peu réabsorbables, avec le Mg. La dissociation de ces complexes la partie terminale des néphrons, permettrait d'expliquer la réabsorption qui s'y produit et l'absence de corrélation entre les clearances du fer et du magnésium dans l'urine urétérale ($r = 0.41$ $N = 11$). Dans ces conditions, le rein excrète 24 % du Mg filtré par les glomérules. L'action du ferrocyanure sur l'excrétion de ce cation et l'état de diurèse osmotique légère qu'il crée, sa concentration plasmatique étant voisine de 2 mM/l, ressemblent aux effets du sulfate sur le comportement rénal du calcium (123, 124).

II . INFLUENCE D'UNE SURCHARGE EN MAGNESIUM, PHOSPHORE OU CALCIUM

A. Surcharge en Mg

a) En l'absence de ferrocyanure (Mg - I)

1) Protocole expérimental (fig. 1, tableau I).

La surcharge a été réalisée, chez les cinq rats qui composent ce groupe, par la perfusion par voie intraveineuse, immédiatement après la période de contrôle d'une solution de sérum physiologique additionnée de 100 µM/ml de chlorure de magnésium, $Mg\ Cl_2,\ 2\ H_2O$. Le débit de perfusion , constant pendant toute la durée de l'expérience, fut de 20 µl/min. Durant l'heure qui suivit la période d'équilibration les recollections furent pratiquées, dans la mesure du possible, et un certain nombre de nouveaux néphrons ponctionnés. Un délai de trente minutes fut respecté, après l'arrêt de l'administration de la solution enrichie et son remplacement par du chlorure de sodium isotonique, et les néphrons furent reponctionnés une seconde ou une troisième fois. Comme pendant la période précédente, quelques prélèvements ont été effectués dans des tubules non ponctionnés au préalable.

2) Résultats.

α - Plasma

La valeur moyenne de la concentration du magnésium ultrafiltrable dans les plasmas prélevés à des temps identiques dans chacune des cinq expériences est représentée par la figure 11. Les moyennes générales pour les périodes de surcharge et d'après surcharge sont consignées dans le tableau IV. Pendant la première demi-heure de perfusion par la solution enrichie, la magnésémie augmente considérablement. Elle continue à s'élever, mais à un moindre degré, lorsque sont effectuées les microponctions, au cours de l'heure qui suit. La valeur moyenne obtenue dans ces conditions expérimentales (1.06 mM/l) est le double de celle du départ (0.49 mM/l). Après l'arrêt de la surcharge, la concentration du Mg

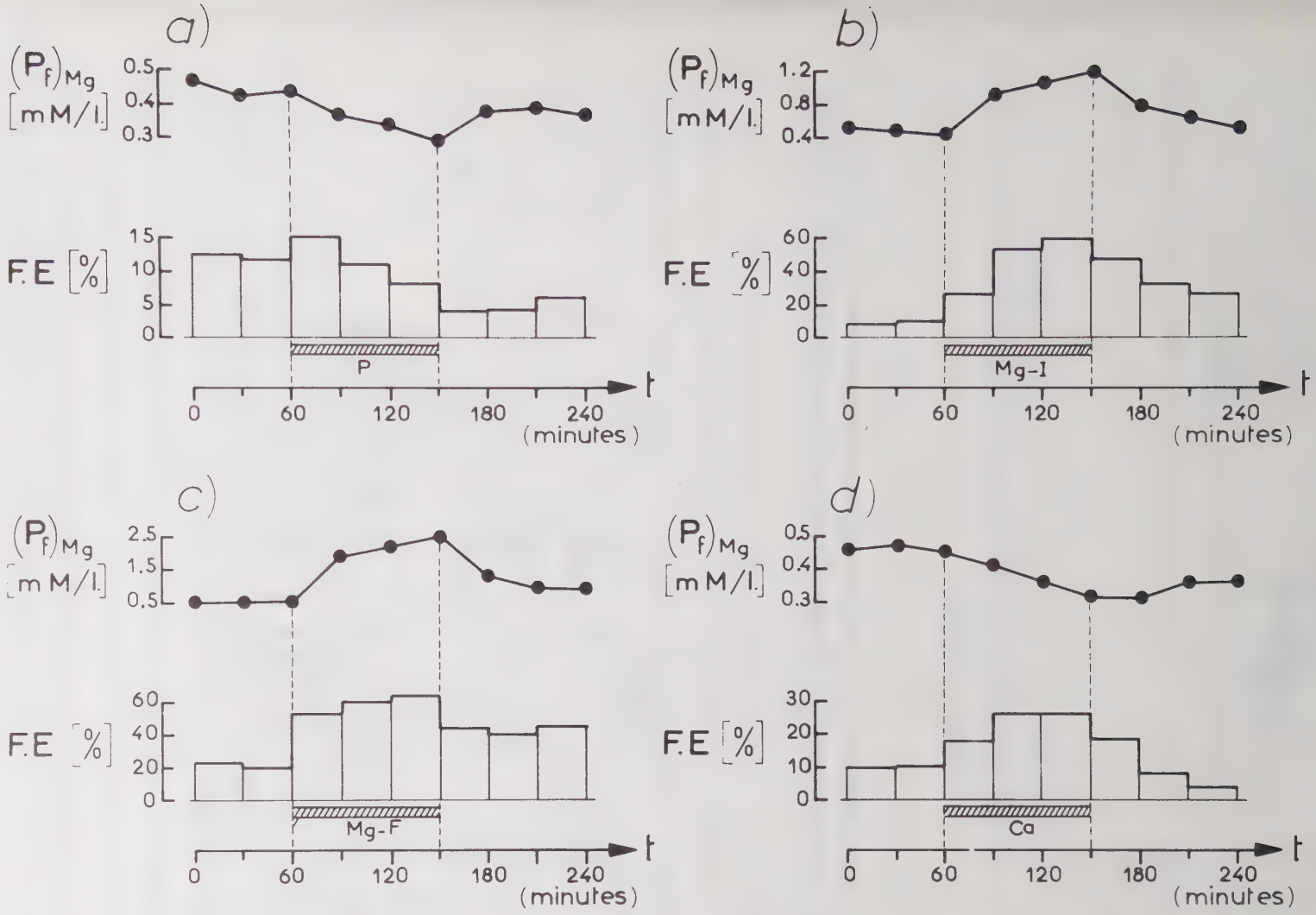

Fig. 11 - Evolution de la concentration dans l'ultrafiltrat et de l'excrétion urinaire du Mg au cours des différentes conditions expérimentales.
F. E. % = Clearance relative. La partie hâchurée représente le temps de surcharge par l'élément qui est indiqué dessous.
a) Série P ; b) Série Mg-I ; c) Série Mg-F ; d) Série Ca.

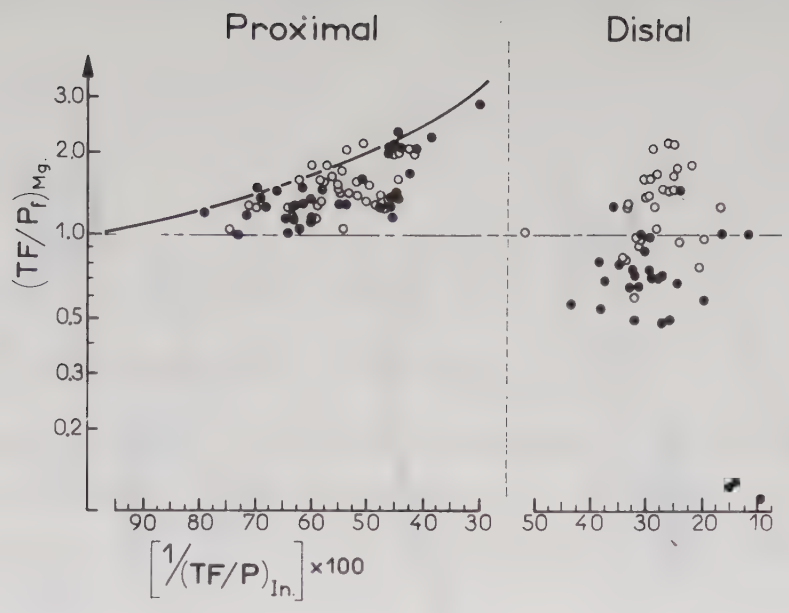

Fig. 12 : Valeurs individuelles des $(TF/P_f$ Mg de l'ensemble des microponctions effectuées pendant (o) ou après (•) la surcharge en magnésium (Série Mg-I).

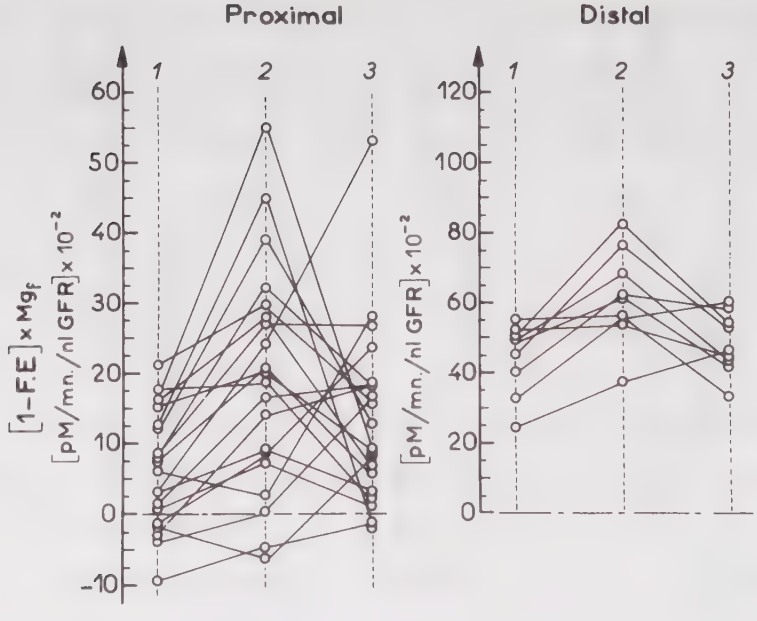

Fig. 13 : Quantités absolues de Mg réabsorbées pendant les périodes 1, 2 et 3 entre le glomérule et le site de ponction des néphrons visités 3 fois (Série Mg-I).

diminue d'abord rapidement puis, plus lentement pour atteindre, dans le dernier plasma, un niveau comparable à celui qui était le sien dans les conditions initiales ($\overline{m}$ = 0.65 ± 0.04 ; N = 15).

β. Fluide tubulaire

Les résultats relatifs aux microponctions pendant et après la surcharge sont illustrés par les figures 10, 12 et 13 consignés dans les tableaux V, VII, IX et X.

L'hypermagnésémie entraîne une diminution de la réabsorption de l'eau dans les tubules contournés proximaux et distaux et les (TF/P) de l'inuline deviennent respectivement égaux à 1.86 ± 0.04 (N = 36) et 3.72 ± 0.14 (N = 31). Les calculs effectués sur les recollections période 1 - période 2, montrent que cet abaissement est très significatif ($P < 0.001$ et $P < 0.001$). Dans le même temps, dans le TCP, le magnésium suit la même évolution et le (TF/P_f) n'est plus que de 1.51 ± 0.05 (N = 37) et le débit relatif reste constant ($(TF/P_f)Mg / (TF/P)In$ = 0.81 ± 0.02 ; N = 36). Par contre, sa concentration à l'entrée du TCD devient supérieure à celle du plasma ($(TF/P_f)Mg$ = 1.30 ± 0.08 ; N = 29) et la comparaison des tubules reponctionnés (N = 17) donne un P inférieur à 0.001. La fraction du Mg filtré qui a été réabsorbée entre le glomérule et ce segment n'est plus que de 64 % contre 85 % dans la première période ($P < 0.001$) et dans l'anse de Henlé de 45 % contre 70 %.

Au cours de la phase de retour aux conditions initiales, le comportement proximal de l'eau et du Mg est inchangé. Les valeurs prises par le (TF/P)In, le $(TF/P_f)Mg$ et le débit relatif sont respectivement de 1,91 ± 0.08 (N = 37), 1,50 ± 0.07 (N = 39) et 0.78 ± 0.02 (N = 37). Au début du tubule distal le (TF/P)In remonte légèrement mais non significativement (4.14 ± 0.37 ; N = 28). La concentration du Mg revient, quant à elle, à une valeur proche de celle du départ ($(TF/P_f)Mg$ = 0.69 ± 0.06 ; N = 28) mais la clearance relative (0.20 ± 0.02 ; N = 28) reste encore plus élevée ($P < 0.05$) si l'on considère les résultats des recollections. Il existe toujours, pendant ces périodes 2 et 3, une corrélation positive très significative entre le (TF/P)In et le $(TF/P_f)Mg$ le long du TCP (période 2 : r = 0.51 (N = 36) ; période 3 : r = 0.72 (N = 37) que

l'on ne retrouve pas à la sortie de l'anse de Henlé.

Les quantités absolues de magnésium réabsorbé entre les points de ponction et les glomérules pour les néphrons qui ont donné lieu à un prélèvement au cours de chacune des périodes sont représentées par la figure 13. Aussi bien au niveau proximal qu'à la sortie de l'anse, elles augmentent significativement pendant la surcharge. Les valeurs moyennes obtenues (tableau VIII) sont telles que le rapport de la période 2 à 1 (19.84/6.65 = 2.98) des quantités absolues réabsorbées, dans le TCP, est plus grand que celui des plasmas correspondants (1.06/0.49 = 2.15), alors que dans la partie initiale du TCD il est inférieur (66.90/42.59 = 1.57). En d'autres termes, la réabsorption dans l'anse, calculée par différence des valeurs proximales et distales ne parvient pas à compenser totalement le surplus du Mg qui lui a été délivré (période 1 = 36 pM/nl SGFR; période 2 = 47 pM/nl SGFR) et il existe donc à ce niveau une saturation partielle du mécanisme de transport. Ce même calcul effectué à partir de l'ensemble des deux populations, proximale et distale, en multipliant la fraction réabsorbée moyenne par la concentration plasmatique et la filtration glomérulaire du rein (+), conduit à des résultats identiques, que l'on considère chacun des animaux (tableau IX), ou l'ensemble du groupe (tableau X). Les valeurs trouvées pendant la troisième période sont intermédiaires entre celles du départ et de la surcharge.

γ - Urine urétérale

La perfusion de la solution enrichie en Mg entraîne une augmentation du débit urinaire qui passe de 2.59 $\pm$ 0.18 à 5.81 $\pm$ 0.96 µl/mn/rein. La filtration glomérulaire ne varie pas significativement (1,17 $\pm$ 0.06 contre 1.04 $\pm$ 0.06 ml/mn/rein dans la période 1). La clearance relative du Mg passe de 0.08 $\pm$ 0.01 à 0.56 $\pm$ 0.04 (tableau VI) et la figure 11 montre que cette élévation se produit surtout après une demi-heure de perfusion. La comparaison de cette valeur avec celle de 36 % observée au début du TCD indique qu'une addition nette est intervenue dans la partie terminale des

---

(+) Chapitre I, paragraphe IV.
quantité réabsorbée = (1 - F.E) x (P_f)Mg x GFR (µM/ml/mn/rein).

néphrons. Dans aucun des échantillons, d'ailleurs, la quantité de ce cation présente n'était supérieure à celle de l'urine prélevée au même moment. Cette sécrétion terminale illustrée par la figure 10 est quantitativement très importante puisque, pour l'ensemble des animaux de la série MgI, elle est égale à 0.248 µM/mn/ml/rein (tableau X), soit près de 40 % du Mg excrété. Alors que la quantité absolue réabsorbée par le rein entier augmente chez trois rats, chez les deux autres elle diminue pendant la surcharge (tableau IX). Au cours de la troisième période, le débit urinaire revient à une valeur proche de celle du début (2.23 ± 0.18 µl/mn/rein) et la filtration glomérulaire reste constante (1.03 ± 0.11 ml/mn/rein). La clearance relative du Mg reste encore supérieure (C_{Mg}/C_{In} = 0.29 ± 0.03) dans l'urine à celle des échantillons prélevés dans le TCD et il se produit donc toujours une addition nette de ce cation dans la partie terminale des néphrons.

b) En présence de Ferrocyanure (Mg - F)

Le protocole expérimental suivi pour les cinq rats qui composent cette série Mg - F est identique à celui décrit pour le groupe Mg - I. La seule différence réside dans la nature et le débit de perfusion des solutions utilisées. Ces données sont consignées dans le tableau I.

RESULTATS

1) - Plasma

Sous l'effet de la perfusion par la solution enrichie, la magnésémie passe de 0.56 ± 0.02 à 2.20 ± 0.12 mM/l (tableau IV, fig. 11). Au cours de la troisième période, elle diminue d'abord rapidement puis se stabilise à un niveau double de celui du départ (1.05 ± 0.09 mM/l).

2) - Fluide tubulaire

Dans ce groupe expérimental, contrairement à ce que l'on observe dans la série Mg - I, l'hypermagnésémie n'entraîne aucune baisse de la réabsorption de l'eau dans le tubule proximal, le $(TF/P_f)_{Fe}$ passe de 1.93 ± 0.08 (N = 22) à 1.83 ± 0.08 (N = 24) et la différence entre les moyennes, calculée

à partir des recollections (tableau XI) n'est pas significative. Il en est de même du $(TF/P_f)Mg$ qui prend la valeur de 1.67 ± 0.06 (N = 24) et du débit relatif $(TF/P_f)\frac{Mg}{In}$ égal à 0.93 ± 0.03 (N = 24).

L'abaissement du $(TF/P_f)Fe$ (3.25 ± 0.18 ; N = 20) et l'augmentation du $(TF/P_f)Mg$ (2.69 ± 0.12 ; N = 19), enregistrés dans la partie initiale du tubule distal sont par contre, comme le montre le tableau XI, très significatifs. Dans ces conditions, la fraction du Mg filtré qui reste dans ce segment atteint $86 \pm 2\%$. La réabsorption qui intervient lors du passage du fluide dans l'anse de Henlé n'est donc plus que de 7 % du filtrat (fig. 10).

Pendant la phase de retour vers les conditions initiales, le $(TF/P_f)Fe$ diminue dans le TCP et le TCD. Les valeurs respectives sont alors de 1.62 ± 0.06 (N = 21) et 3.03 ± 0.17 (N = 19). Le (TF/P_f) du magnésium évolue de façon identique (TCP = 1.40 ± 0.07 ; N = 21 ; TCD=1.47 ± 0.11 ; N = 19) et les clearances relatives moyennes reviennent vers leur niveau de départ (TCP = 0.87 ± 0.03 ; N = 21 ; TCD = 0.48 ± 0.03 ; N = 19). Il existe, pendant la surcharge, une corrélation très significative entre le (TF/P_f) du ferrocyanure et du magnésium (TCP : r = 0.73 ; N = 24 ; TCD : r = 0.89 ; N = 19),(fig. 14). Elle persiste également au cours de la troisième période (TCP : r = 0.65, N = 21 ; TCD : r = 0.74, N = 19).

Bien que la charge délivrée aux néphrons soit multipliée par un facteur 4, la quantité absolue de Mg réabsorbée, dans les tubules ponctionnés trois fois (fig. 15, tableau VIII), entre le glomérule et le début du tubule distal est la même pour les périodes 1 et 2. Ce résultat se confirme si l on considère l'ensemble de la population des échantillons proximaux et distaux prélevés (tableau X) et tout se passe comme si les mécanismes de transport le long de ces segments étaient complètement saturés.

3 - Urine urétérale

Dans le cas de cette série Mg - F, la surcharge en Mg ne s'accompagne d'aucune modification du débit urinaire ou de la filtration glomérulaire (tableau VI). La clearance relative du Mg atteint alors une valeur de 0.61 ± 0.03. Comparée à celle obtenue à l'entrée du tubule distal, 25 % du filtrat

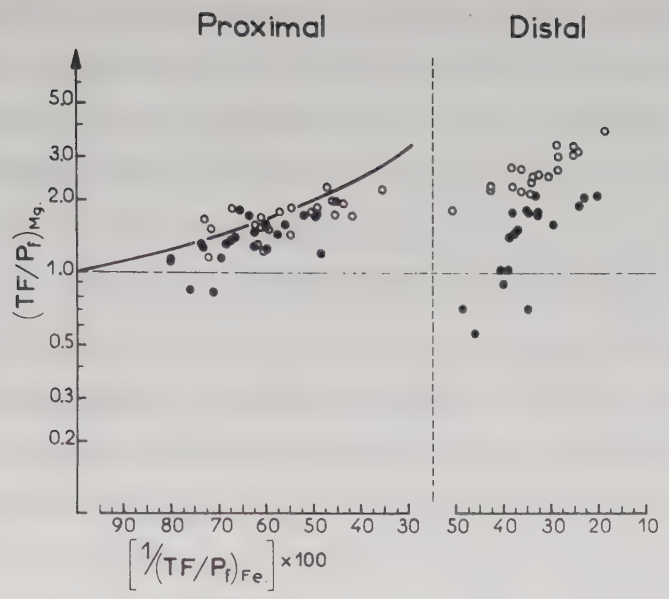

Fig. 14 : Comportement tubulaire du magnésium pendant et après une surcharge en Mg (Série Mg-F) :

-o- Surcharge
-●- Après surcharge

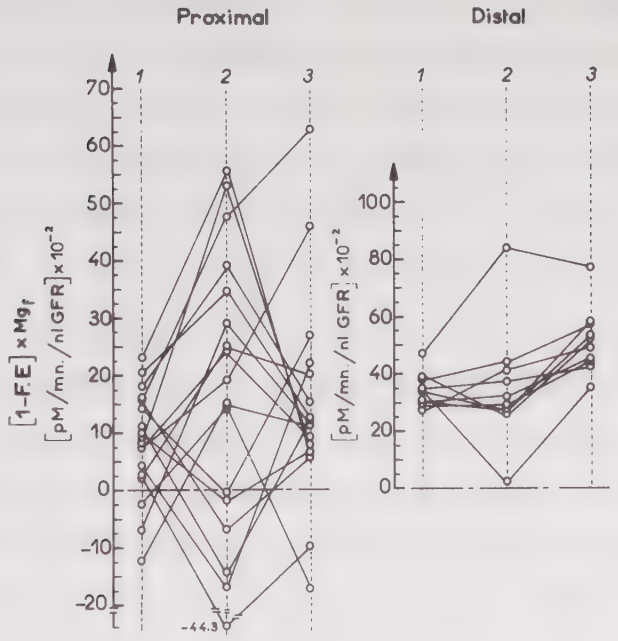

Fig. 15 : Quantités absolues de Mg réabsorbées pendant les périodes 1, 2 et 3 entre le glomérule et le site de ponction des néphrons visités 3 fois (Série Mg-F).

sont réabsorbés dans la partie terminale des néphrons. Dans le même temps les clearances du fer et du magnésium sont reliées par un coefficient de corrélation positif très élevé ($r = 0.92$ $N = 10$). Pendant la dernière heure de l'expérience, le débit urinaire et la filtration glomérulaire restent constants. La clearance relative du Mg (0.43 ± 0.03) est encore inférieure à celle calculée à la sortie de l'anse de Henlé mais, en dépit du niveau plasmatique plus élevé, la quantité absolue réabsorbée dans la partie terminale des néphrons n'est que de 0,054 contre 0,08 µM/mn/ml/rein pendant la période de contrôle (tableau X). Il n'existe aucune corrélation entre la clearance du ferrocyanure et celle du Mg. Contrairement à ce qui avait été observé dans la série Mg-I on ne trouve chez aucun des animaux l'indication d'une capacité maximale de transport (T_M) du rein pour ce cation.

c) Discussion

Les travaux de MENDEL et BENEDICT (81), effectués chez différentes espèces de mammifères, ont montré, dès 1909, que le rein était capable d'éliminer environ 80 % d'une surcharge intrapéritonéale de Mg. Cet organe joue donc un rôle de première importance dans la régulation du contenu en cet élément de l'organisme. Dans nos conditions expérimentales, la perfusion d'une solution riche en Mg ne s'accompagne d'aucune modification de la filtration glomérulaire et les résultats contradictoires de la littérature (4, 12, 38, 98, 137) semblent être dus, en grande partie, à la diversité des doses utilisées. En l'absence de ferrocyanure, l'hypermagnésémie est associée, comme chez le chien, à une diminution de la réabsorption de l'eau aussi bien au niveau du tubule contourné proximal (21), qu'à celui du tubule contourné distal (128). Une action directe de la concentration en Mg du fluide tubulaire sur la perméabilité membranaire des cellules épithéliales ou sur le mécanisme de transport du sodium, permettrait de rendre compte de cette observation, mais dans l'état actuel de nos connaissances, il n'existe pas de travaux susceptibles de favoriser l'une ou l'autre de ces hypothèses. Alors que la réabsorption du Mg dans le TCP est dans le rapport des concentrations plasmatiques, il n'en est plus de même à la sortie de l'anse de Henlé où elle est nettement inférieure. Le transport de ce cation s'effectue donc, le long de cette structure, par l'intermédiaire d'un mécanisme actif saturable. Chez un animal, cette satu-

ration est déjà atteinte pendant la période de contrôle et la quantité absolue réabsorbée dans l'anse n'augmente pas au cours de la surcharge. Ces résultats confirment ceux obtenus par WEN, EVANSON et DIRKS chez le chien (128). Dans chacun des échantillons distaux pour lesquels à la fois le $(TF/P)_{In}$ et le (TF/P_f) Mg ont été déterminés, le débit résiduel (36 %) était inférieur à celui de l'urine correspondante (56 %). Si l'on admet que les néphrons superficiels reçoivent 60 % du filtrat glomérulaire total (106, 107, 108), pour rendre compte de la quantité de ce cation présente dans l'urine, il faudrait que les néphrons moyens et juxtamédullaires excrètent la totalité du Mg qui leur a été délivré par les glomérules. Une telle hypothèse semble assez peu plausible à l'inverse de celle d'une sécrétion par les canaux collecteurs. L'existence d'une telle sécrétion suggérée par les travaux de AVERIL et HEATON (10) mais remise en question par ALFREDSON et WALSER (5), chez le rat, a d'ailleurs été démontrée chez le chien par WEN et col. (129) pendant la rédaction de notre manuscrit. Deux processus, une réabsorption suivie d'une sécrétion participent donc à l'élaboration de l'urine définitive et selon leur intensité respective, la quantité absolue réabsorbée par le rein augmente ou diminue. Pendant l'hypermagnésémie, chez quatre des cinq animaux, la réabsorption absolue augmente entre le glomérule et le tubule distal. Pour trois d'entre eux, l'intensité de la sécrétion est insuffisante pour la compenser alors que chez le quatrième elle la surpasse. La quantité de Mg réabsorbée par le rein, est donc accrue pendant la surcharge, chez les trois premiers rats, et diminuée chez le dernier. C'est également le cas du cinquième animal par suite de l'addition nette importante au niveau des canaux collecteurs et de la saturation complète du mécanisme de transport présent dans la première partie du néphron. Il semble donc, contrairement aux premiers résultats d'AVERILL et HEATON (10), que l'existence d'un T_M pour le magnésium chez le rat, comme chez l'homme (51), n'ait pas un caractère obligatoire, tout au moins dans la limite des concentrations étudiées. Durant la période III, les quantités absolues réabsorbées sont intermédiaires entre celles des périodes I et II. Le quart seulement des échantillons distaux présente un débit résiduel supérieur à celui de l'urine correspondante et il est donc probable que, dans ces conditions, du Mg est encore ajouté au fluide intratubulaire lors de son passage dans les canaux collecteurs.

En présence de ferrocyanure de sodium, la quantité absolue de Mg réabsorbé dans le tubule contourné proximal augmente mais de façon non significative. Alors que la charge qui est délivrée est multipliée environ par un facteur quatre, la réabsorption totale qui intervient entre le glomérule et la partie initiale du segment distal est constante, de la période I à la période II. Pour rendre compte de cette observation, plusieurs points doivent être pris en considération : 1) la concentration plasmatique moyenne, pendant la surcharge, est plus du double de celle obtenue dans la série Mg - I dans laquelle on avait déjà l'indication d'une saturation du mécanisme de transport, partielle chez quatre animaux et totale chez le dernier. Ce facteur, s'il permet d'expliquer une diminution relative de la quantité réabsorbée entre les deux états, n'en justifie pas néanmoins la constance absolue, sauf si l'on admet que par suite d'une inhibition plus marquée de la sécrétion de PTH (45, 46, 5O, 74, 80, 112) ou de la condition physiologique initiale, le T_M est atteint chez les cinq rats. 2) Bien que les corrélations qui relient les (TF/P_f) du magnésium et du fer soient hautement significatives, elles le sont moins que celles existant les concentrations (TCP : $r = 0.84$ et TCD : $r = 0.95$). Il est donc possible qu'une grande partie du Mg ajouté pendant la surcharge contracte de nouvelles liaisons, dans cette première partie du néphron, avec les charges encore libres du ferrocyanure, donnant ainsi naissance à des complexes non réabsorbables. Aucune de ces hypothèses cependant ne suffit pour expliquer la différence de comportement le long des tubules distaux et des canaux collecteurs enregistrée entre les séries Mg - I et Mg - F. A la place de la sécrétion attendue, c'est en effet une réabsorption très importante qui intervient dans ce dernier groupe de telle sorte que la clearance relative est identique en présence ou en l'absence de $(Fe (CN)_6) Na_4$. Cette action, déjà observée au cours de la première période est d'autant plus paradoxale que le ferrocyanure par les charges négatives qu'il porte, s'il n'est pas complexé en totalité, devrait augmenter la différence de potentiel transtubulaire et faciliter de la sorte les processus de sécrétion comme c'est le cas du sulfate chez le chien (128).. D'autre part, s'il est toujours lié, du moins en partie, au Mg, on ne voit pas comment une telle réabsorption pourrait s'effectuer. La raison de la stimulation des mouvements nets de Mg vers l'interstitium reste complètement inconnue.

B. Surcharge en phosphore

Pour les quatre animaux que comporte cette série P, le début de la période de surcharge a été marqué par l'injection d'un ml de solution contenant 120 µM de $Na_2 HPO_4$ et 30 µM de $Na H_2 PO_4$. La solution B utilisée ensuite renfermant 110 mM/l de $Na_2 HPO_4$ et le débit de perfusion était de 50 µl/mn. Le protocole expérimental suivi a été identique à celui des deux groupes précédents (chapitre I paragraphe 2).

RESULTATS

1) - plasma

Sous l'effet de l'administration de la solution enrichie, la phosphatémie passe de 1.48 ± 0.04 à 3.14 ± 0.16 et retombe à 1.58 ± 0.07 au cours de la troisième période. Simultanément, la magnésémie varie de façon inverse et les valeurs obtenues sont respectivement de 0.45 ± 0.02, 0.32 ± 0.03 et 0.38 ± 0.03 mM/l (tableau IV). La figure 11 où sont représentées les valeurs moyennes des plasmas prélevés à des temps identiques, montre que la concentration du Mg ultrafiltrable s'abaisse pendant tout le temps de la surcharge et remonte immédiatement après que celle-ci ait cessé pour atteindre un niveau stable, mais inférieur à celui du départ.

2) - Fluide tubulaire

L'hyperphosphatémie se traduit par une diminution importante de la réabsorption de l'eau dans le tubule contourné proximal, et le $(TF/P)_{In}$ passe de 2.04 ± 0.08 (N = 23) à 1.64 ± 0.08 (N = 28) (tableau V). Les calculs effectués sur les échantillons appareillés (tableau XII) confirment que cette variation est très significative ($P < 0.0001$). Pendant la surcharge, il apparait sur la figure 16 une grande dispersion des valeurs individuelles des (TF/P_f) Mg le long de ce segment. Elle résulte de la présence d'un animal (rat n° 3) pour qui le comportement tubulaire du Mg est devenu, dans ces conditions, très différent de celui des autres puisque son (TF/P_f) est égal à 0.84 alors que pour les trois restant il est de 1.42. La moyenne générale de l'ensemble du groupe est de 1.31 ± 0.07. De la même façon, le débit relatif

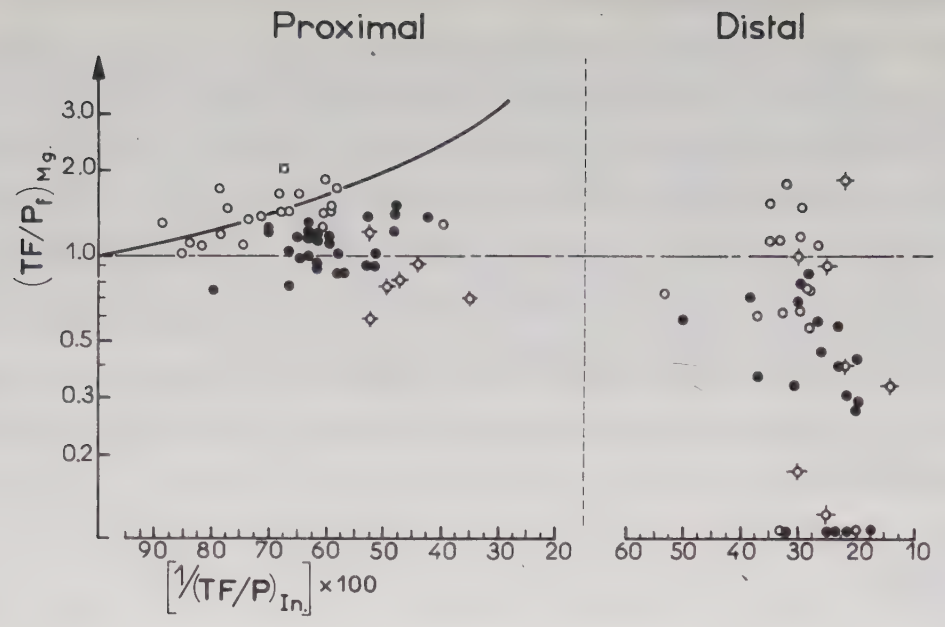

Fig. 16 : Influence d'une surcharge en P sur le comportement tubulaire du Mg (Série P) :

-o- Surcharge (animaux 1, 2, 4)
-●- Après surcharge (animaux 1, 2, 3, 4)
-⊕- Surcharge rat n° 3

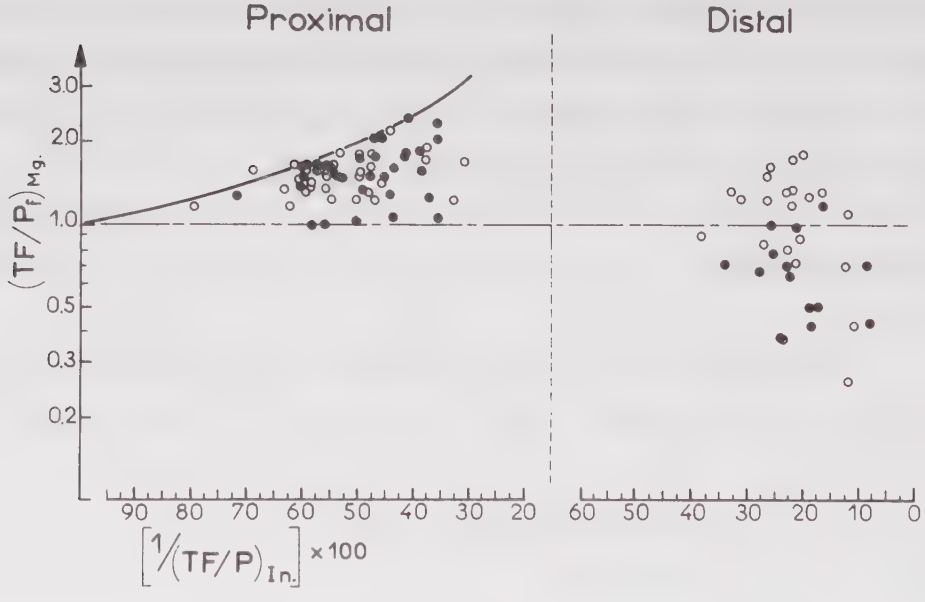

Fig. 17 : Effets de l'hypercalcémie sur le comportement tubulaire du Mg (Série Ca)

-o- Période 2
-●- Période 3

à la fin du TCP chez ce rat est de 39 % contre 97 % aux trois autres et masque ainsi la diminution de réabsorption relative et absolue de ce cation qui se produit en général.

L'abaissement du $(TF/P)_{In}$ dans le tubule proximal suffit à expliquer la valeur correspondante à l'entrée du tubule distal. Il passe en effet de 5.04 ± 0.36 (N = 24) à 3.67 ± 0.21 (N = 24) et l'intensité des mouvements nets d'eau dans l'anse de Henlé n'est pas modifiée par l'hyperphosphatémie. L'inhomogénéité de la réponse observée dans le TCP ne se retrouve pas dans le TCD, si l'on considère du moins les résultats, animal par animal, et les (TF/P_f) Mg ne sont pas significativement différents avant et pendant la surcharge (période 1 = 0.90 ± 0.05 N = 24 ; période 2 = 0.82 ± 0.11 N = 24) . C'est également le cas de la fraction du magnésium filtré encore présente au point de ponction (tableau V fig. 10). Il faut remarquer cependant que pour un certain nombre d'échantillons, la concentration de ce cation devient très faible (<0.1 mM/l) ou même indétectable.

Au cours de la 3ème période on retrouve, chez tous les individus, un comportement tubulaire proximal pour le Mg identique à celui du rat n° 3 pendant la seconde période. Le $(TF/P)_{In}$ ne varie pas (1.71 ± 0.05 N = 30) par contre le (TF/P_f) Mg prend une valeur proche de l'unité (1.10 ± 0.03 N = 31). Comme le montre le calcul effectué à partir des recollections (tableau XIII, cet abaissement est très significatif ($P<0.01$). En conséquence, la réabsorption relative le long de ce segment augmente considérablement (1 - FE = 0.36 ± 0.01 N = 29). Dans le même temps, le $(TF/P)_{In}$ à l'entrée du distal remonte (3.93 ± 0.21 N = 20) mais de façon non significative. La diminution du (TF/P_f) Mg (0.39 ± 0.06 N = 20 $P<0.01$) est amplifiée par la présence de cinq échantillons, provenant d'animaux différents, dans lesquels la concentration de ce cation était indétectable à la microsonde électronique. Le débit relatif (fig. 10) n'est plus alors que de 0.12 ± 0.02 (N = 20 $P<0.01$).

Les quantités absolues réabsorbées dans les différentes parties accessibles à la microponction, calculées pour l'ensemble des prélèvements, soit proximaux, soit distaux, sont respectivement, durant les périodes I, II et III de 0.094, 0.064 et 0.169 μM/mn dans le TCP et de 0.397, 0.317 et 0.415 μM/mn entre le glomérule et le début du TCD.

3) - Urine urétérale

La perfusion de la solution riche en phosphore provoque une légère diurèse et le débit urinaire passe de 3.01 ± 0.34 à 6.97 ± 0.24 µl/min (tableau VI). L'augmentation de la filtration glomérulaire (GFR 1 = 1.09 ± 0.10 GFR 2 = 1.28 ± 0.07) n'est cependant pas significative. La figure 11 montre que si la valeur moyenne de la fraction du Mg excrétée ne change pas (10 % contre 12 %), cela est dû à une stimulation de l'excrétion pendant la première demi-heure de surcharge. De la comparaison des clearances relatives à l'entrée du distal et dans l'urine définitive (fig. 10), comme au vu des quantités absolues réabsorbées, il ressort qu'au cours de cette seconde période, la réabsorption de Mg est stimulée dans la partie terminale des néphrons. Lors du retour de la phosphatémie vers ses valeurs initiales, le débit urinaire retombe à 3.90 ± 0.30 µl/mn et la filtration glomérulaire est inchangée (1.21 ± 0.09 ml/mn/rein). Le débit relatif du Mg n'est plus que de 5 % mais, contrairement à ce qui se passait durant la surcharge, l'augmentation de réabsorption a son origine dans le tubule contourné proximal.

C - Surcharge en calcium

La période de contrôle achevée, les quatre animaux de cette série Ca ont reçu, par voie intraveineuse, une solution contenant 150 mM/l de $CaCl_2$, $2H_2O$ (tableau I) à un débit de 20 µl/mn. Après la demi-heure de perfusion correspondant à la période d'équilibration, et pendant tout le restant de la surcharge, une nouvelle solution, moins riche ($CaCl_2$, $2H_2O$: 110 mM/l, NaCl : 50 mM/l) a été administrée. En dehors de cette particularité le protocole expérimental fut identique à celui suivi dans les autres groupes (fig. 1 Chapitre 1).

RESULTATS

1) - plasmas (tableau IV, fig. 10)

Sous l'effet de la surcharge, la calcémie totale passe de 2.46 ± 0.06 à 3.66 ± 0.14 mM/l. La fraction ultrafiltrable s'abaisse et la concentration du calcium non lié aux protéines ne s'élève que de 1.49 ± 0.04 à 1.73 ± 0.07 mM/

Au cours de la troisième période, ces valeurs reviennent vers leur niveau initial (Ca_{Tot} = 2.79 ± 0.12 ; Ca_f = 1.59 ± 0.05 mM/l). A l'hypercalcémie est associée une diminution de la magnésémie (Mg_f 1 = 0.46 ± 0.04 ; Mg_f 2 = 0.36 ± 0.04) qui, bien que remontant légèrement en fin d'expérience (fig. 10) reste inférieure à celle du départ (Mg_f 3 = 0.34 ± 0.04).

2) - fluide tubulaire

Les données recueillies sur l'ensemble des ponctions sont consignées dans les tableaux V et X et illustrées par les figures 10 et 17. Les résultats de recollections sont rapportés dans le tableau XIII.

Dans le tubule contourné proximal, la perfusion de la solution riche en Ca ne produit aucun effet sur la réabsorption de l'eau et du magnésium. Les $(TF/P)_{In}$ prennent, au cours des périodes I, II et III, les valeurs respectives de 2.07 ± 0.07 (N = 29), 1.99 ± 0.08 (N = 30) et 2.12 ± 0.07 (N = 34). Les (TF/P_f) Mg correspondants sont égaux à 1.50 ± 0.07 (N = 29), 1.50 ± 0.05 (N = 31) et 1.58 ± 0.03 (N = 34). En conséquence, les débits relatifs ne sont pas non plus modifiés (0.73 ± 0.03 N = 29 ; 0.78 ± 0.03 N = 30 ; 0.76 ± 0.03 N = 34).

A l'entrée du tubule distal le $(TF/P)_{In}$ reste constant pendant toute la durée de l'expérience (1 = 4.79 ± 0.25 N = 19 ; 2 = 5.16 ± 0.42 N = 22 ; 5.77 ± 0.82 N = 14). Par contre, pendant la surcharge, la concentration du magnésium s'élève significativement ($P<0.001$) et devient supérieure à celle du plasma ((TF/P_f) Mg = 1.10 ± 0.09 N = 23) de sorte que la fraction du filtrat qui est encore présente à la sortie de l'anse de Henlé passe de 0.12 ± 0.02 à 0.25 ± 0.03 ($P<0.001$). Ces deux derniers paramètres reprennent des valeurs semblables à celles du départ durant la phase de retour aux conditions initiales ((TF/P_f) Mg = 0.69 ± 0.06 (N = 14) ; F.E = 0.15 ± 0.02 N = 12). Les quantités absolues réabsorbées entre le glomérule et le point de ponction sont respectivement de 0.136, 0.086 et 0.065 µM/mn dans le TCP et 0.443, 0.294 et 0.229 µM/mn jusqu'au TCD.

3) - urine urétérale

La perfusion intraveineuse de solutions à haute teneur en calcium

se traduit, pour l'ensemble du rein, par un accroissement de la diurèse qui partant de 2.88 ± 0.25 atteint 7.02 ± 1.16 µl/mn/rein. La filtration glomérulaire est inchangée (1.09 ± 0.07 contre 1.07 ± 0.07 ml/mn/rein pendant la période 1) mais la clearance relative du magnésium est multipliée par un facteur 2,6 (tableau VI). La comparaison des débits relatifs en différents points des néphrons (fig. 10) montre que cette augmentation résulte uniquement de l'inhibition de la réabsorption qui se produit au niveau de l'anse de Henlé. L'arrêt de la surcharge est marqué par une diminution très importante du débit urinaire (v = 1.04 µl/mn) accompagnée d'une chute concomitante de la filtration glomérulaire (GFR = 0.79 ml/mn/rein), de la clearance du Mg (C_{Mg} = 0.054 ml/mn/rein) et de l'excrétion fractionnée (C_{Mg} / C_{In} = 0.06 ± 0.02). De l'examen du tableau X et de la figure 10, il ressort que la stimulation de la réabsorption ainsi observée a son origine dans la partie terminale des néphrons.

D - Discussion des paragraphes B et C

La perfusion de la solution enrichie en P entraîne une hypomagnésémie importante qui pourrait résulter à la fois d'une augmentation de la fixation du Mg par l'os, de la formation de complexe de phosphate de magnésium $MgHPO_4$ (126) peu diffusible et de l'expansion du volume des liquides extra cellulaires (E VEC) que, dans des conditions expérimentales identiques, STRICKLER et col. (116) ont observé. L'intervention d'une action hormonale semble à écarter puisque l'hyperphosphatémie entraîne, par un effet secondaire (9), la libération de parathormone et que celle-ci aurait plutôt tendance à élever le magnésium plasmatique (50, 74, 112). Une telle EVEC permettrait également de rendre compte de l'abaissement du $(TF/P)_{In}$ dans les échantillons proximaux (36, 40). Chez trois des animaux le débit résiduel du Mg s'élève, dans le TCP, pendant la surcharge malgré la diminution de la charge filtrée. Cette inhibition de la réabsorption qui ressemble à celle décrite, dans le cas du phosphore par FRICK, RECTOR et SELDIN (40), pourrait être la conséquence soit d'une augmentation de la différence de potentiel transtubulaire sous l'influence des charges négatives portées par les phosphates, favorisant ainsi une diffusion en retour du Mg et freinant au contraire le flux entrant, soit, par l'intermédiaire d'un mécanisme inconnu, de la modification du pH du

fluide intratubulaire, soit enfin de la dilution des protéines dans les capillaires péritubulaires par suite de l'EVEC. Une action inhibitrice directe de la parathormone est peu probable car elle est difficilement conciliable avec le comportement proximal du rat numéro 3. Dans la partie terminale des néphrons, les quantités absolues de Mg réabsorbées sont supérieures à celles de la période de contrôle et la clearance relative diminue, contrairement à ce que l'on observe pour le sodium (36, 72, 77). On retrouve donc ici un effet identique à celui qu'exerce le ferrocyanure de sodium.

L'évolution de la concentration en Mg des échantillons prélevés dans le TCP, chez l'animal 3 pendant la période II, ressemble à celle suivie chez les trois autres après l'arrêt de la surcharge. La réabsorption de ce cation augmente considérablement et prend un caractère isotonique. La diminution des débits relatifs à l'entrée du tubule distal et dans l'urine définitive semble totalement tributaire de cette stimulation des flux nets dans la partie initiale des néphrons. L'apparition de cet effet au bout d'un temps plus ou moins long selon les individus évoque l'intervention d'un facteur humoral, en l'occurence la PTH libérée par suite de l'hypocalcémie secondaire à l'hyperphosphatémie. En outre, les travaux récents de MASSRY et col. (78), réalisés chez le chien, sont venus confirmer ceux de MAC INTYRE et col. (74) effectués chez le rat et remis en question par HEATON (50), et ont montré que cette hormone favorisait la réabsorption du Mg dans le rein. Au cours d'une autre série d'expériences destinées à mettre en évidence le caractère inhibiteur de l'hypermagnésémie sur la secrétion de PTH, MASSRY, COBURN et KLEEMAN (80) ont également trouvé un temps de latence, de l'ordre d'une heure, avant que ne se manifeste l'effet rénal de l'hormone. Les résultats obtenus ici vont dans le sens de leurs observations et permettent de placer au niveau du tubule contourné proximal le site d'action majeur de la PTH sur l'excrétion du Mg.

Les modifications apportées par une surcharge en calcium sur la réabsorption du magnésium dans le rein, ont été principalement étudiées chez le chien. Les travaux de WOLF et BALL (136), WALLACHS et CARTER (122), de SAMIY et col. (109), et plus récemment de COBURN et col. (31, 32) ont montré que la perfusion d'une solution enrichie en Ca s'accompagnait d'une augmentation significative de l'excrétion du Mg. Nos résultats obtenus chez le

rat sont en accord avec cette conclusion. Contrairement à ce qui se produit dans la série expérimentale P, l'action dans le tubule contourné proximal est nulle. Elle se manifeste au début du tubule distal, puisque le débit résiduel double entre la période I et la période II et que la quantité absolue réabsorbée décroît d'un facteur supérieur à celui du rapport des concentrations correspondantes de l'ultrafiltrat plasmatique. Les mouvements nets de Mg dans la dernière partie du néphron sont de faible importance et l'augmentation d'excrétion occasionnée par la surcharge en Ca résulte donc essentiellement de la diminution de la réabsorption dans l'anse de Henlé. Cet effet disparaît pendant la phase de retour vers les conditions initiales où il est remplacé par une stimulation du flux entrant dans la partie terminale des néphrons (tubule contourné distal et (ou) canal collecteur).

Pour expliquer l'inhibition de la réabsorption dans l'anse, on peut faire intervenir des facteurs physiques, comme la concentration du Ca en elle-même et l'acidose métabolique, ou hormonaux par l'intermédiaire de la parathormone ou de la thyrocalcitonine (TCT). La stimulation de la sécrétion de TCT sous l'influence de l'hypercalcémie ne permet pas de rendre compte des phénomènes observés, puisque les auteurs (6, 35, 92, 94, 101), s'accordent à penser qu'elle a une action hypomagnésurique qui s'exerce dès le tubule proximal (70). Il en est de même de l'inhibition de la PTH qui devrait se prolonger au cours de la troisième période et, comme les expériences de surcharge par le phosphore semblent l'indiquer, agit essentiellement dans le TCP. Les travaux récents de STACY et WILSON (115) ont montré d'autre part que l'acidose métabolique qui augmente considérablement l'excrétion urinaire du calcium ne modifie pratiquement pas celle du Mg. L'effet direct de la concentration en calcium sur les mécanismes de réabsorption dans l'anse est très probable puisque les expériences réalisées par COBURN et col. (32) chez les chiens thyroparathyroidectomisés ont abouti aux mêmes résultats. La chute de filtration glomérulaire et de débit urinaire au cours de la troisième période suffit à expliquer l'augmentation de la réabsorption qui se produit dans la partie terminale des néphrons.

CHAPITRE III

INFLUENCE D'UNE SURCHARGE EN MAGNESIUM SUR L'EXCRETION DU PHOSPHORE ET DU CALCIUM

Les données recueillies par les endocrinologistes depuis ces dix dernières années amènent à remplacer progressivement le concept du métabolisme phosphocalcique par celui du métabolisme phosphomagnésocalcique. Les travaux récents de MAC INTYRE et col. (74), PECHET et col. (94), GITELMAN et col. (45, 46), RADDE et col. (99) et SHERWOOD et col. (112), ont, en effet, abouti à la conclusion que, comme la calcémie, la magnésémie était capable d'influencer le taux de secrétion de la parathormone et de la thyrocalcitonine chez le rat. De plus, la concentration relative de l'un des éléments par rapport à celle des deux autres est susceptible, en dehors de toute action hormonale, de modifier l'intensité des mécanismes de transports respectifs au niveau de l'os, de l'intestin et du rein.

L'influence de la concentration du magnésium sur le comportement tubulaire et l'excrétion urinaire du phosphore et du calcium a été étudiée en comparant les résultats obtenus chez des animaux normaux, puis hypermagnésémiques. La diminution de la clearance relative du P qui suit la surcharge par le Mg semble provenir d'une diminution de secrétion de la parathormone et il n'existe probablement pas de relation directe entre les mécanismes de transport de ces deux ions le long des néphrons. L'effet calciurique de l'hypermagnésémie se manifeste au niveau de l'anse de Henlé et est indépendant de la présence de PTH ou de TCT. Les corrélations qui lient les (TF/P_f) du Ca et du Mg à l'entrée du tubule contourné distal n'impliquent pas obligatoirement l'existence d'un transporteur commun pour ces éléments dans l'anse.

I - MODALITES D'EXCRETION DU PHOSPHORE ET DU CALCIUM CHEZ LE RAT PLACE DANS DES CONDITIONS NORMALES

Les résultats ont été obtenus au cours de la première période commune aux 18 rats. Le protocole expérimental suivi et la nature des solutions administrées ont été décrits dans le premier chapitre.

A. Résultats

a) Phosphore

1. Plasmas

Les valeurs plasmatiques du phosphore ultrafiltrable, homogènes dans chaque série expérimentale, ont varié dans de larges proportions d'un groupe à l'autre. Les moyennes sont respectivement de 1,82 $\pm$ 0.10 (N = 12), 2,25 $\pm$ 0.15 (N = 12) et 2,41 $\pm$ 0.09 (N = 16)mM/l dans les séries Mg - I, P, Ca et Mg - F. La moyenne générale pour l'ensemble des animaux est de 2,02 $\pm$ 0.07 (N = 52).

2. Fluide tubulaire

Les données relatives à la totalité des prélèvements effectués pendant cette période de contrôle sont illustrées par les figures 18 et 19 et consignées dans le tableau XIV. La concentration du phosphore dans les échantillons proximaux est toujours inférieure à celle du plasma, au même moment. En l'absence de ferrocyanure, les $(TF/P_f)_P$ sont de 0.67 $\pm$ 0.02 (N = 32), 0.73 $\pm$ 0.03 (N = 25) et 0.70 $\pm$ 0.02 (N = 29) dans les groupes Mg I, P et Ca. La moyenne générale de l'ensemble est de 0.70 $\pm$ 0.01 (N = 86). La présence de ferrocyanure est associée à une augmentation du $(TF/P_f)P$ qui atteint une valeur de 0.81 $\pm$ 0.03 (N = 21) pour un (TF/P)I. G. peu différent de celui des autres groupes (tableau V). On doit noter la grande dispersion des valeurs individuelles qui sont comprises entre 0.3 et 1.0. Il n'existe aucune corrélation significative entre le $(TF/P)_{I.G.}$ et le $(TF/P_f)_P$ et la réabsorption du phosphore le long du TCP est donc indépendante de celle de l'eau. Les débits relatifs dans la dernière partie accessible de ce segment sont de 0.31 $\pm$ 0.02 (N = 32), 0.37 $\pm$ 0.02 (N = 23), 0.34 $\pm$ 0.01 (N = 29) et 0.44 $\pm$ 0.03 (N = 21) pour les séries Mg. I, P, Ca et Mg.F.

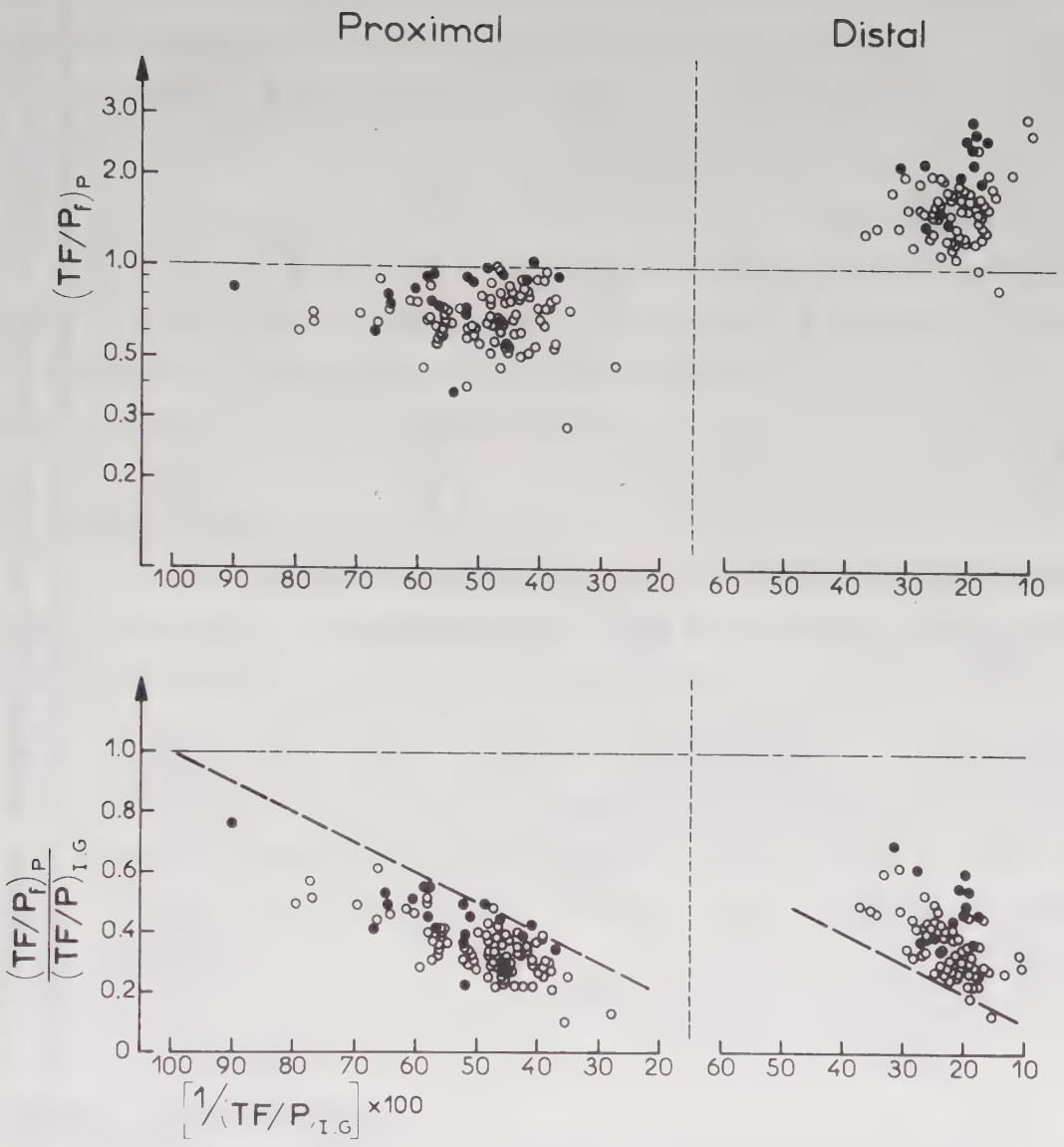

Fig. 18 : Comportement tubulaire du phosphore :

Ensemble des résultats obtenus au cours de la période de contrôle chez les rats des séries Mg-I, P, Ca (-o-) et Mg-F (•).

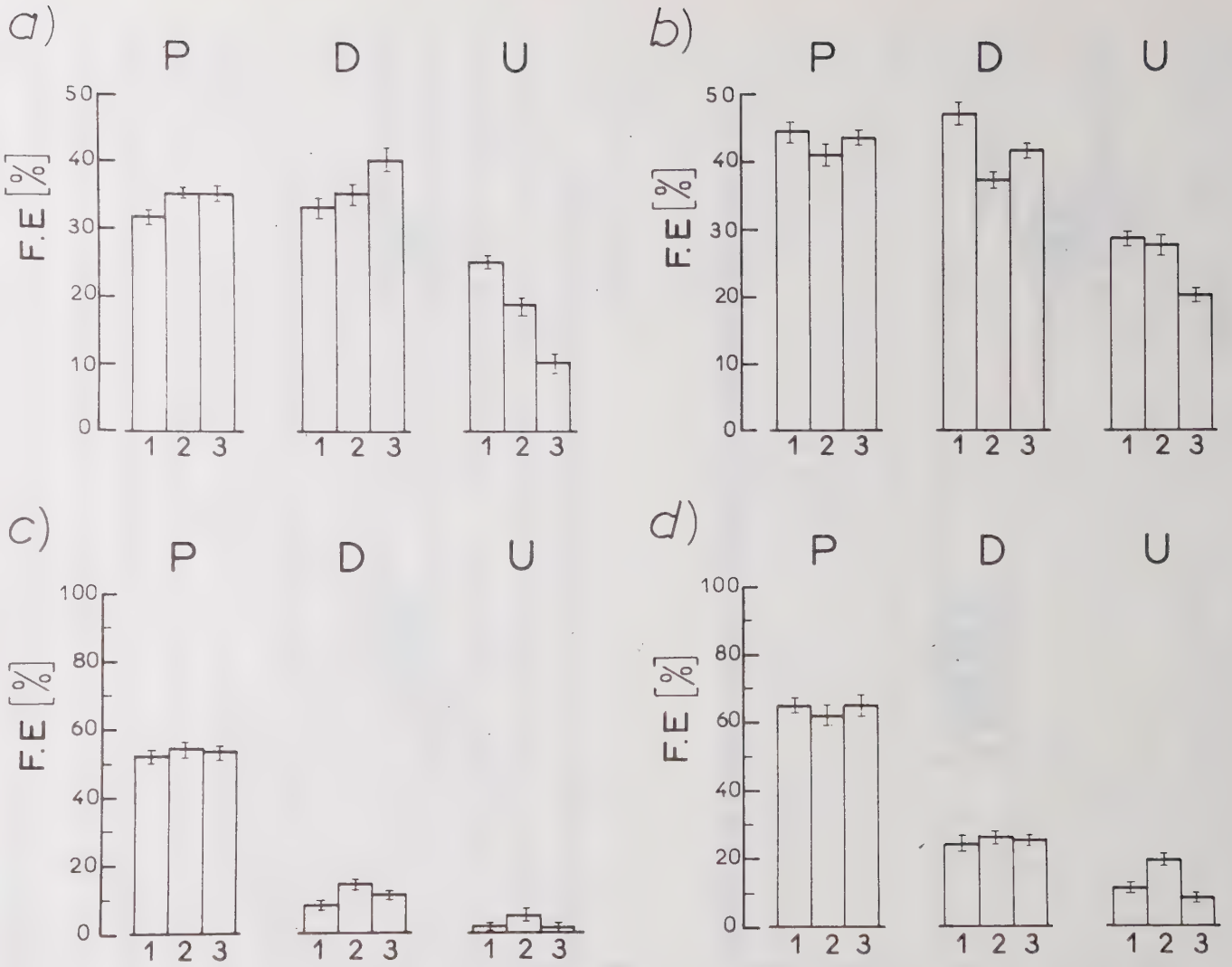

Fig. 19 : Débits relatifs de phosphore (a et b) et de calcium (c et d) encore présents aux points de ponction (P = proximal, D = distal) ou dans l'urine urétérale (U) au cours des trois périodes des séries Mg-I (a et c) et Mg-F (b et d).

Le (TF/P_f) du phosphore des échantillons prélevés à l'entrée du tubule distal est toujours supérieur à l'unité et prend les valeurs respectives de 1.47 ± 0.08 (N = 21), 1.73 ± 0.09 (N = 24), 1.57 ± 0.08 (N = 19) et 2.22 ± 0.15 (N = 13). La moyenne obtenue chez les animaux perfusés par du chlorure de sodium est de 1.60 ± 0.05 (N = 64). Cette élévation de la concentration du fluide tubulaire dans la partie inaccessible à la microponction s'explique par une réabsorption nette d'eau et l'absence de mouvements nets de phosphore. La fraction de cet élément filtré par les glomérules, que l'on retrouve à la sortie de l'anse de Henlé, est en effet de 0.35 ± 0.03 (N = 20), 0.36 ± 0.02 (N = 24), 0.34 ± 0.02 (N = 19) et 0.48 ± 0.03 (N = 13), selon la série expérimentale, et n'est pas différente de celle observée à la fin du tubule proximal, Il n'existe pas de corrélation entre le (TF/P) de l'indicateur glomérulaire et celui du phosphore à la sortie de l'anse.

3. Urine urétérale

L'excrétion urinaire de phosphore est relativement constante d'un groupe à l'autre et représente plus de 20 % de la quantité qui est délivrée au rein (tableau XIV). La comparaison des clearances relatives à l'entrée du tubule distal et dans l'urine définitive montre que plus de 10 % du filtrat sont encore réabsorbés dans la partie terminale des néphrons (TCD + CC).

La présence de ferrocyanure, contrairement à ce qui se passe le long du TCP ou de l'anse de Henlé, favorise cette réabsorption terminale qui est alors de 20 %.

b) Calcium

1. Plasmas (tableau XV)

La concentration du calcium plasmatique ultrafiltrable varie peu d'une série expérimentale à l'autre. Les moyennes relevées dans les groupes MgI, P, Ca et MgF sont respectivement de : 1.41 ± 0.06 (N = 15), 1.43 ± 0.01 (N = 11), 1.49 ± 0.04 (N = 11) et 1.32 ± 0.05 (N = 16) mM/l. C'est donc en présence de ferrocyanure de sodium que cette calcémie est la plus faible. Les valeurs du calcium total (ultrafiltrable + lié aux protéines) ont été déterminées pour les rats P et Ca. Elles sont de 2.35 ± 0.06 (N = 10) et 2.46 ± 0.06 (N = 9) mM/l. Dans les conditions normales, la fraction ultrafiltrable représente donc 60 % du calcium plasmatique total.

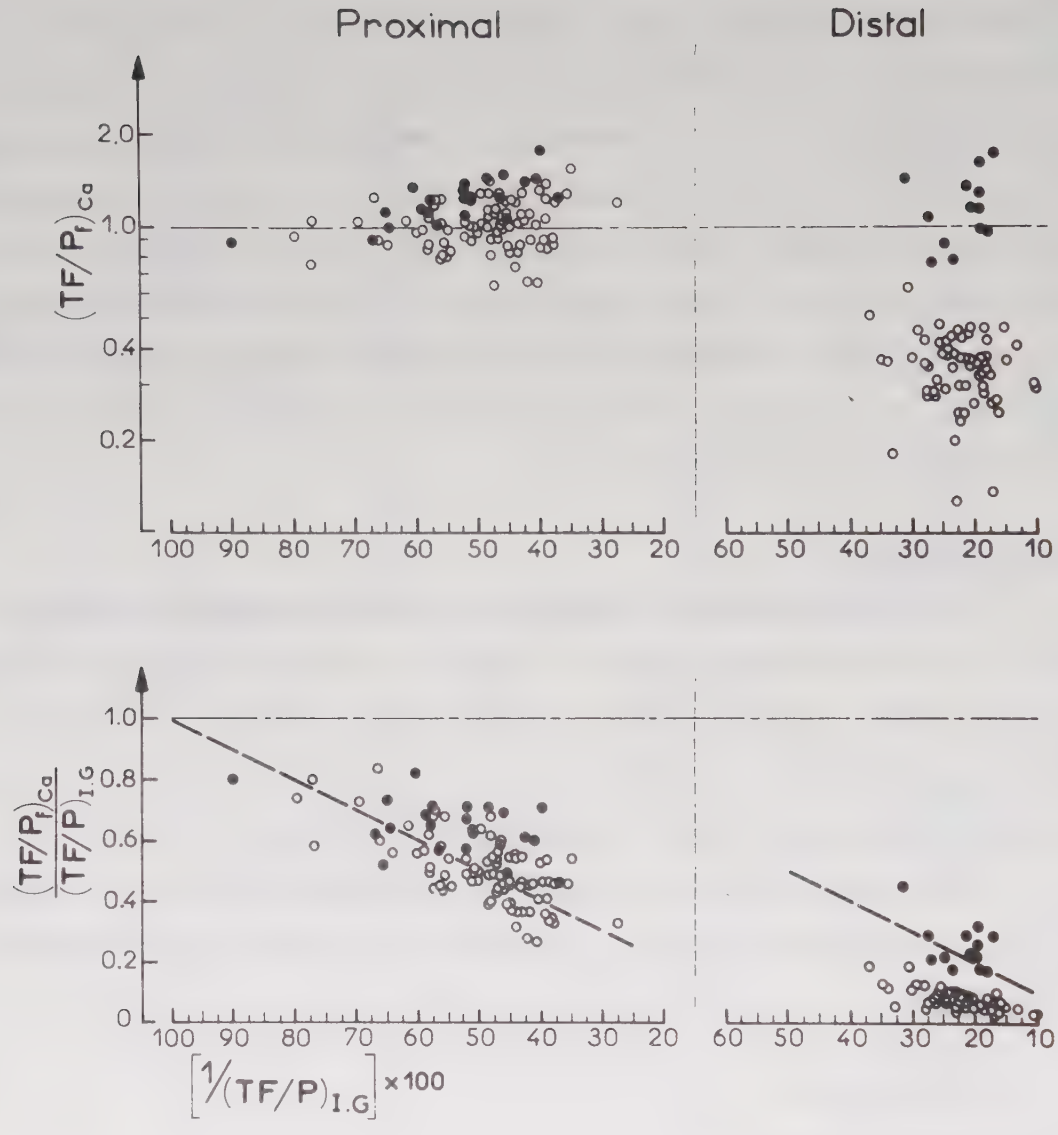

Fig. 20 : Comportement tubulaire du Calcium :

Ensemble des résultats obtenus au cours de la période de contrôle chez les rats des séries Mg-I, P, Ca (-o-) et Mg-F (•).

2. Fluide tubulaire

Les données, obtenues chez les animaux non diurétiques ou en présence de ferrocyanure de sodium, sont consignées dans le tableau XV et illustrées par les figures 19 et 20. Cette dernière représente les résultats de toutes les microponctions pour lesquelles les concentrations de calcium et d'indicateur glomérulaire ont été simultanément déterminées. La moyenne générale de l'ensemble des échantillons proximaux, en l'absence de $[Fe(CN)_6]Na_4$ est de 1.02 $\pm$ 0.02 (N = 85). Il n'existe aucune corrélation entre le (TF/P)In et le $(TF/P_f)Ca$ le long du TCP et la concentration du fluide intratubulaire reste toujours identique à celle du plasma. La réabsorption du Ca dans cette structure présente donc un caractère isotonique. La fraction du Ca filtré qui est encore présente dans sa partie la plus éloignée du glomérule, mais encore accessible à la microponction, est de 49 % pour les 13 animaux recevant de l'inuline tritiée. La présence de ferrrocyanure modifie de façon significative la valeur prise par le (TF/P)Ca qui devient égale à 1.24 $\pm$ 0.05 (N = 22) et celle du débit résiduel correspondant qui atteint 0.65 $\pm$ 0.02 (N = 22). Dans le même temps, il existe une corrélation positive significative entre le (TF/P_f) du Fer et celui du calcium ($r = 0.71$, N = 22). La concentration de ce cation s'élève donc, dans ces conditions, le long du TCP. La corrélation qui relie ces (TF/P_f) est cependant moins bonne que celle observée entre les concentrations absolues ($r = 0.76$, N = 22).

Chez les animaux de séries Mg I, P et Ca, la concentration des échantillons prélevés à l'entrée du tubule distal est toujours inférieure à celle des plasmas correspondants. Le $(TF/P_f)Ca$ est égal à 0.35 $\pm$ 0.01 pour l'ensemble des 64 microponctions pratiquées et est très constant d'un groupe à l'autre (tableau XV). Il en est de même du rapport $(TF/P_f)Ca$ / (TF/P)In dont la valeur est de 8 % dans chacune des séries. La comparaison avec les résultats obtenus à la fin du tubule proximal montre que plus de 40 % du Ca filtré par les glomérules sont réabsorbés dans l'anse de Henlé. Il n'existe aucune corrélation significative entre l'évolution du (TF/P)In et celle du $(TF/P_f)Ca$ dans ces prélèvements. La présence de ferrocyanure élève considérablement la concentration du Ca que l'on peut mesurer dans le fluide intratubulaire distal et 10 des 13 échantillons recueillis ont un $(TF/P_f)Ca$ égal ou supérieur à l'unité, la valeur moyenne prise par ce rapport étant

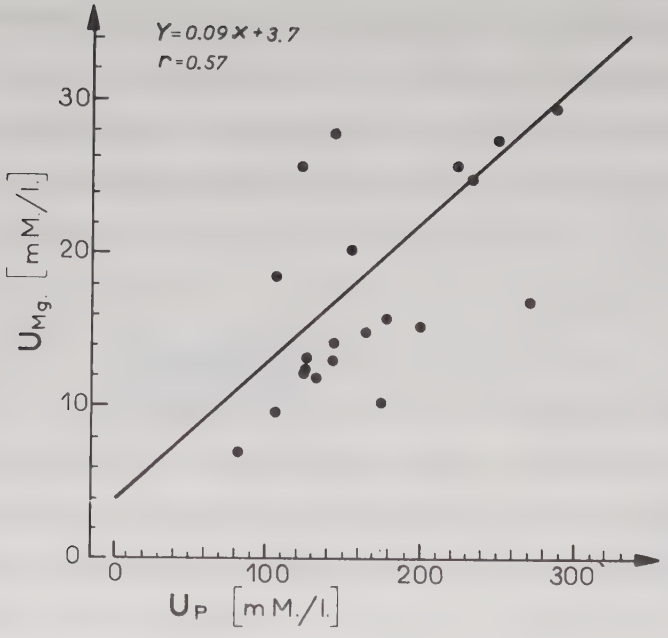

Fig. 21

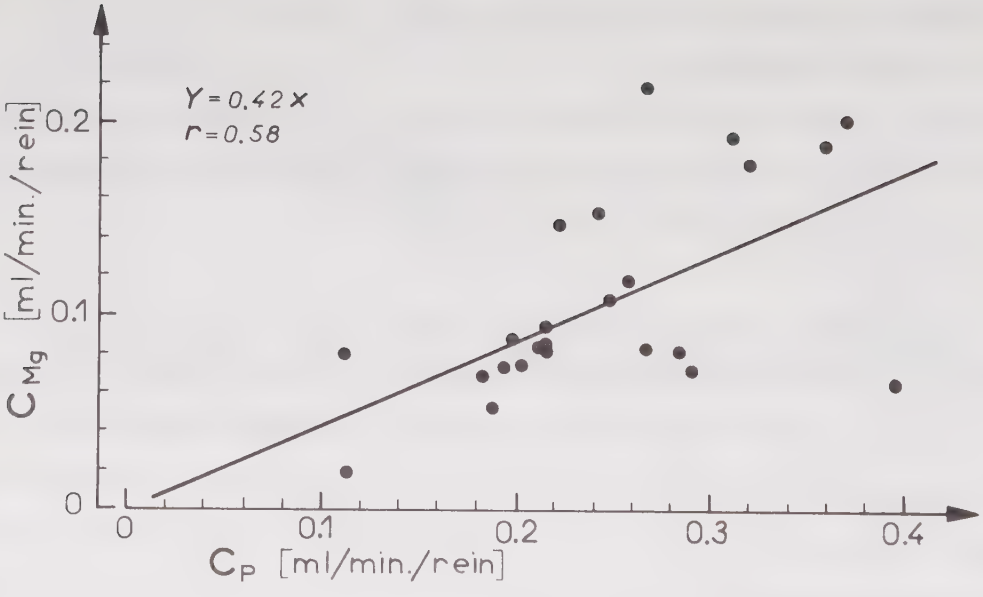

Fig. 22

Fig. 21 et 22 : Corrélations entre les concentrations (21) et les clearances (22) du phosphore et du magnésium au cours de la période de contrôle chez les rats des séries Mg-I, Ca et P.

de 1.16 ± 0.09. Alors que les (TF/P_f) du fer et du calcium ne sont pas reliés (r = 0.40), il apparaît entre les concentrations de ces mêmes éléments une corrélation positive très significative (r = 0.88, N = 13). La clearance relative, qui était de 65 % à la fin du TCP, n'est plus que de 26 % au début du TCD, et 40 % du Ca filtré sont donc réabsorbés lors du passage du fluide intratubulaire dans l'anse de Henlé.

3. Urine urétérale

La concentration de ce cation dans l'urine définitive est supérieure à celle des plasmas et les valeurs des rapports (U/P_f)Ca sont respectivement de 3.87, 4.89, 6.98 et 8.37 pour les séries MgI, P, Ca et MgF. Compte tenu de la différence importante qui existe entre les (U/P)In et le (U/P_f)Fe correspondant, la fraction excrétée, voisine de 1 % chez les animaux non diurétiques, est égale à 10 % en présence de ferrocyanure (tableau XV). Si l'on compare les débits résiduels à l'entrée du tubule distal et dans l'urine définitive, on note que chez les rats MgI, P et Ca, 6 à 7 % du filtrat sont encore réabsorbés dans la partie terminale des néphrons, ce qui représente de 75 à 90 % de la quantité qui leur a été délivrée. Chez ceux de la série Mg-F, la réabsorption absolue de Ca le long des tubules distaux et des canaux collecteurs est beaucoup plus importante puisqu'elle correspond à 16 % de la quantité filtrée.

c) Interrelations Mg-P et Mg-Ca

Chez les animaux non diurétiques, il n'existe pas de corrélation significative entre les concentrations du magnésium et du phosphore, ou les (TF/P_f) correspondants des échantillons de fluide proximal. Il en est de même des concentrations ou des (TF/P_f) du Mg et du Ca. Ces différentes variables ne sont pas non plus liées, tout au moins par une relation linéaire, à l'entrée du tubule distal où les coefficients de corrélation entre les (TF/P_f) sont de 0.20 (N = 64) dans le cas de Mg-P et de 0.26 (N = 63) dans celui de Mg-Ca. Dans l'urine urétérale, les concentrations (r = 0.57, N = 22) et les clearances (r = 0.58, N = 24) du P sont reliées à celles du Mg (fig. 21 et 22) alors que celles du Ca ne le sont pas (r = 0.24 pour les concentrations et 0.38 pour les clearances).

La présence de ferrocyanure de sodium modifie considérablement

l'ampleur des interractions : la concentration du Ca est reliée à celle du Mg par un r de 0.70 (N = 22) pour les échantillons prélevés dans le TCP et de 0.84 (N = 13) pour ceux qui proviennent du TCD. Les valeurs correspondantes calculées pour les (TF/P_f) sont respectivement égales à 0.43 (N = 22) et 0.65 (N = 13). Dans l'urine urétérale, les clearances de ces cations sont correlées (r = 0.65, N = 11), beaucoup plus que les concentrations (r = 0.51, N = 11). On ne trouve chez ces animaux aucune relation significative entre le Mg et le P, quel que soit le niveau du néphron auquel on se place.

B. Discussion

Les concentrations plasmatiques sont très voisines d'une série expérimentale à l'autre. La fraction ultrafiltrable évaluée ici à 60 % du total est comparable à celle décrite chez l'homme (84, 95, 119) et chez le chien (27, 37). Elle est légèrement inférieure à celle obtenue, dans la même espèce, par LASSITER, GOTTSCHALK et MYLLE (66) en ponctionnant directement dans des glomérules situés à la surface du cortex. La phosphatémie, au contraire, est très variable d'un groupe à l'autre. Contrairement à celui de la calcémie, son niveau peut être différent d'un individu à l'autre, qu'il s'agisse de l'homme (125, 126), du chien (125) ou du rat (116). Si l'on considère cependant la valeur obtenue en faisant la moyenne de tous les plasmas, elle est sensiblement identique à celle observée chez cette dernière espèce par STRICKLER et col. (116), FRICK (41) et AMIEL, KUNTZIGER et RICHET (7). En dépit de cette variabilité, les valeurs des (TF/P_f) du phosphore sont égales dans chacun des groupes expérimentaux où l'inuline fut employée comme indicateur glomérulaire. Elles sont tout à fait comparables à celles décrites par STRICKLER et col. (116), GEKLE et KOSSMANN (43), AMIEL et col, (7), MOREL et col. (88), mais considérablement plus élevées que celles données par FRICK, RECTOR et SELDIN (40) et plus faibles que celles obtenues par CARONE (24). Nous retrouvons également l'absence de corrélation entre la réabsorption de l'eau, donc du sodium, et du phosphore dans ce segment du néphron. Si l'on admet que la dispersion des résultats individuels traduit des différences de capacité fonctionnelle d'un tubule à l'autre (88) et que le nombre des

échantillons permet d'avoir une représentation du comportement normal de la population, la réabsorption du phosphate dans la partie terminale du TCP apparaît comme limitée par un gradient de concentration de 0,70 chez les animaux non diurétiques. La présence de rerrocyanure de sodium diminue la réabsorption et la valeur du $(TF/P_f)P$ est significativement supérieure à celle obtenue, avec le même indicateur glomérulaire au cours des expériences préliminaires (88). Les quantités absolues de phosphore réabsorbées le long du tubule contourné proximal calculées à partir de la totalité des microponctions effectuées chez le rat non diurétique d'une part et en diurèse légère par le ferrocyanure d'autre part sont identiques et égales à 1.3 µM/mn/rein. Par suite de la phosphatémie plus élevée obtenue dans ce dernier groupe où la filtration flomérulaire est identique à celle des autres animaux, la quantité filtrée augmente et une telle observation pourrait s'expliquer par l'existence d'une capacité maximum de réabsorption pour le P dans cette partie du néphron.

Dans chacun des groupes, la fraction du phosphore filtré, encore présente à l'entrée du tubule distal, est égale ou de quelques pourcents supérieure à celle calculée à la fin du tubule proximal accessible. Le flux net de P qui intervient entre ces deux sites, c'est-à-dire dans la partie du néphron regroupant la portion terminale non accessible du TCP, la pars recta et l'anse de Henlé, est donc pratiquement nul chez les animaux non diurétiques ou en diurèse légère par le ferrocyanure. Ce résultat, en accord avec ceux publiés par les autres auteurs (7, 88, 116), a été retrouvé depuis par MURAYAMA et col. (90) lors d'expériences de microperfusion qui ont montré, de plus, que l'activité spécifique du fluide recueilli dans la partie initiale du tubule distal n'était pas différente de celle de la solution perfusée dans le segment proximal du même néphron. Si un flux net de faible importance intervient dans la partie des néphrons superficiels non accessibles à la microponction, il est donc exclusivement le résultat d'un flux unidirectionnel dirigé de la lumière tubulaire vers le milieu interstitiel. Les travaux de microponction, réalisés tout dernièrement par AMIEL et KUNTZIGER (8), ont également mis en évidence l'absence d'addition nette de phosphore entre le segment proximal et distal des mêmes tubules. Les valeurs, légèrement plus élevées, des débits fractionnaires que l'on observe à l'entrée du TCD

dans deux groupes expérimentaux, proviendraient donc d'une dispersion de l'échantillonnage. Ces dernières remarques permettent d'expliquer l'augmentation du $(TF/P_f)_P$, sous l'influence du ferrocyanure de sodium, à la sortie de l'anse, par celle des échantillons proximaux correspondants. La localisation volontairement précoce de la plupart de nos microponctions nous empêche de statuer sur le comportement du P le long du TCD et rend compte du fait que nous ne trouvons aucune corrélation entre le $(TF/P)_{In}$ et le $(TF/P_f)_P$ dans nos échantillons contrairement à STRICKLER et col. (116) et AMIEL et col. (7). La clearance relative de cet élément, calculée dans l'urine urétérale, est toujours inférieure d'une dizaine de pourcents à celle enregistrée à l'entrée du tubule distal. Bien qu'une différence de participation à l'élaboration de l'urine définitive des néphrons profonds et superficiels soit envisageable, il semble plus probable que, comme AMIEL, KUNTZIGER et RICHET l'ont suggéré (7), cette observation traduise une réabsorption additionnelle le long de la partie terminale des néphrons (tubule contourné distal et (ou) canal collecteur).

La réabsorption du calcium s'effectue tout le long du tubule contourné proximal accessible et en l'absence de ferrocyanure a un caractère isotonique, c'est-à-dire que la concentration du fluide intratubulaire reste égale à celle du plasma. Ces résultats confirment ceux décrits chez la même espèce par LASSITER et col. (68), FRICK et col. (39, 40), MOREL et col. (88) et ceux de DUARTE et WATSON (37) obtenus chez le chien. La présence de $[Fe(CN)_6]Na_4$ est associée à une élévation du $(TF/P_f)Ca$ concomitante de celle du $(TF/P_f)Fe$. Comme dans le cas du magnésium, l'augmentation de la concentration dans les échantillons de microponction dépend plus de la concentration absolue du ferrocyanure que de la réabsorption de l'eau. Il est probable que ce polyanion donne, de façon identique au sulfate (123, 124), naissance à des complexes peu diffusibles non réabsorbés dans le TCP.

Chez les animaux des séries Mg I, P et Ca, la concentration du Ca s'abaisse lors du passage du fluide dans l'anse de Henlé et le (TF/P_f) est nettement inférieur à l'unité à l'entrée du tubule distal. La moyenne générale obtenue ici est significativement plus faible que celle rapportée par LASSITER

et col. (66) pour des conditions expérimentales identiques. Cette différence pourrait résulter en partie des techniques de dosages utilisées. La comparaison des débits relatifs à la fin du TCP et au début du TCD montre que plus de 40 % du Ca filtré par le glomérule sont réabsorbés entre ces deux segments, probablement surtout dans la branche large ascendante de l'anse (66). En présence de ferrocyanure, le $(TF/P_f)Ca$ devient supérieur à l'unité et est comparable à celui des échantillons proximaux. La corrélation très significative qui relie le fer et le calcium, quand ils sont exprimés en concentration, disparaît si l'on considère les (TF/P_f). Cet argument en faveur de l'existence de complexes ferrocyanure-calcium est cependant en contradiction avec le fait que la réabsorption absolue dans l'anse est identique d'une série à l'autre et indépendante de la présence de ce polyanion.

Les clearances relatives calculées à partir des échantillons d'urine urétérale recueillis chez les animaux non diurétiques sont comparables à celles habituellement rapportées chez le rat (66) et le chien (27, 37, 96) et plus de 80 % du Ca délivré à l'entrée du tubule distal sont réabsorbés dans la partie terminale des néphrons. Cette fraction est inférieure dans la série MgF puisque l'on retrouve 10 % du Ca filtré par les glomérules dans l'urine définitive, contre 26 % à la sortie des anses de Henlé. Néanmoins, la réabsorption absolue est le double de celle des autres groupes et l'action du ferrocyanure ressemble à celle observée dans le cas du magnésium. Une telle réabsorption suppose qu'une partie des complexes formés dans la première portion des tubules soit dissociée ensuite. L'absence de corrélation entre les concentrations ou les clearances du Ca et du Fe dans l'urine définitive est en faveur d'une telle hypothèse.

Chez le rat non diurétique, les sites de réabsorption du magnésium et du phosphore sont complètement séparés : le P est principalement réabsorbé dans le tubule contourné proximal et pratiquement pas dans l'anse de Henlé. La situation est exactement inverse dans le cas du Mg. L'absence de corrélation entre les concentrations ou le (TF/P_f) de ces deux éléments dans les échantillons de microponction doit donc refléter simplement l'indépendance des mécanismes de transport. Par contre, dans l'urine définitive, les concentrations et les clearances du Mg et du P sont reliées par un coef-

ficient de corrélation positif significatif. Les mouvements nets de ces deux solutes dans la dernière partie du néphron sont faibles par rapport à celui de l'eau et la liaison observée pourrait simplement résulter de l'augmentation parallèle de leur concentration dans les régions médullaires des canaux collecteurs. Il est également possible qu'une fraction importante du Mg soit présente dans l'urine sous forme de sels de phosphate qui se seraient formés dans la partie terminale des néphrons. Enfin, l'hypothèse d'une corrélation entre le magnésium et un troisième élément relié au phosphore ne doit pas non plus être écartée.

L'existence d'un mécanisme de transport commun au calcium et au magnésium dans certaines parties des néphrons a été avancée par de nombreux auteurs aussi bien chez l'homme (15, 28) que chez le chien (32, 64, 77, 78, 131, 132). D'autre part, si l'on administre du furosemide à des rats, les clearances de ces deux cations sont correlées (97). Cependant, BLYTHE et col. chez le chien (16), STACY et WILSON chez le mouton (115), et JANDA (59) in vitro sur des tranches de cortex rénal n'ont pas retrouvé cette relation. Chez les rats non diurétiques, des séries Mg I, P et Ca, que l'on considère les concentrations absolues ou celles rapportées aux plasmas correspondants, on n'obtient pas de corrélation significative entre ces deux cations, quel que soit le niveau du néphron auquel on se place. Toutefois, ces éléments, quand le débit urinaire est faible, sont complexés en partie, selon leur affinité respective, par des molécules organiques ou non, et il est possible que ces combinaisons masquent la relation qui existe entre les processus de réabsorption qui ne concernent que les ions à l'état libre. Les corrélations qui sont observées en présence de ferrocyanure résultent probablement de la combinaison partielle du polyanion avec chacun des deux cations bivalents : les coefficients qui relient les concentrations du Mg et du Fe ($r = 0.85$ TCP et TCD) et celles du Ca et du Fe ($r = 0.76$ TCP et 0.88 TCD) sont en effet supérieurs à ceux calculés entre le Ca et le Mg ($r = 0.70$ TCP et 0.84 TCD).

II. EFFETS D'UNE SURCHARGE PAR LE MAGNESIUM

Les modifications de l'excrétion rénale du phosphore et du calcium par suite d'une hypermagnésémie ont été étudiées dans les séries

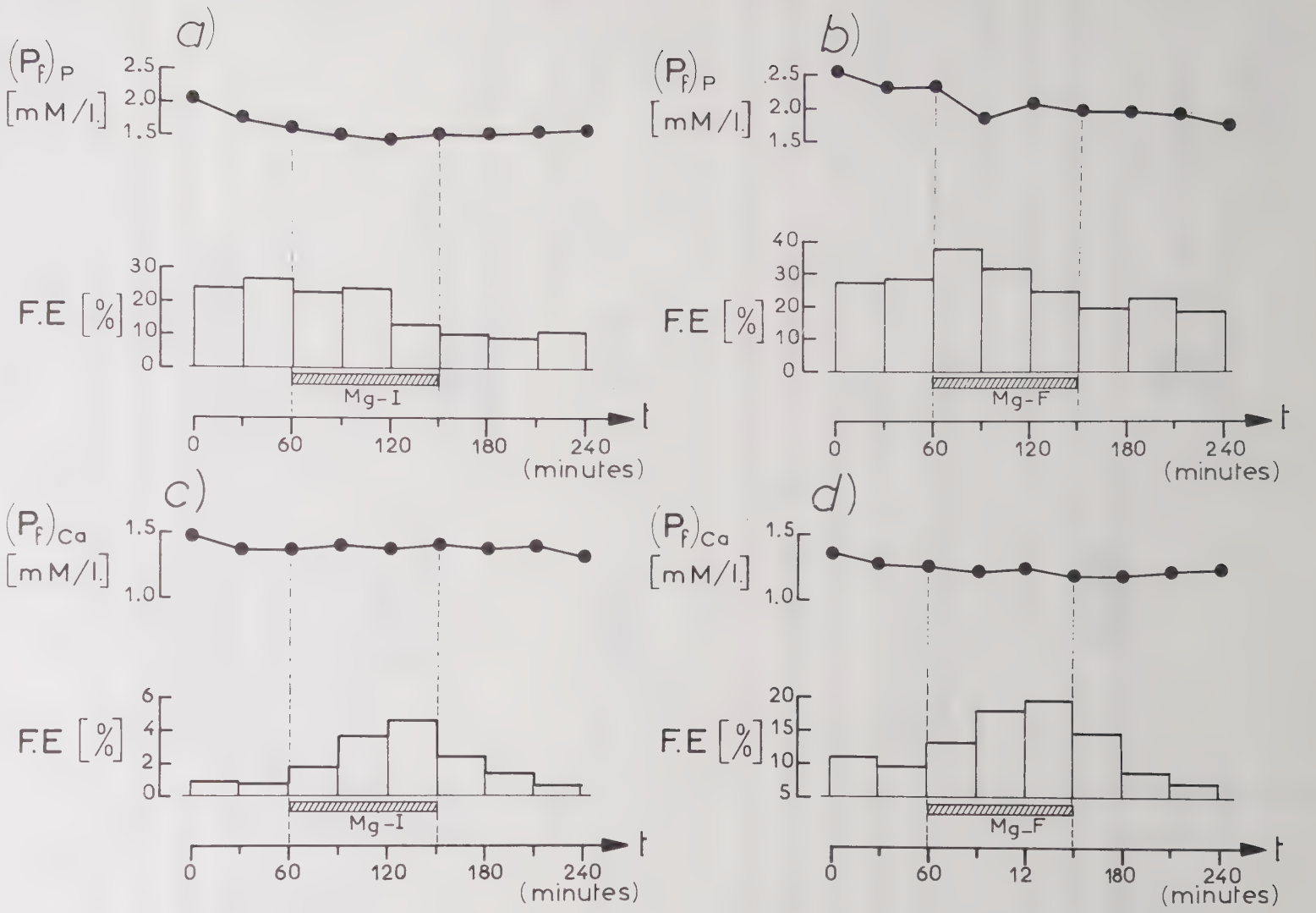

Fig. 23 : Evolution des clearances relatives et des concentrations dans l'ultrafiltrat plasmatique du Ca et du P sous l'influence d'une surcharge en magnésium (Séries Mg-I et Mg-F).

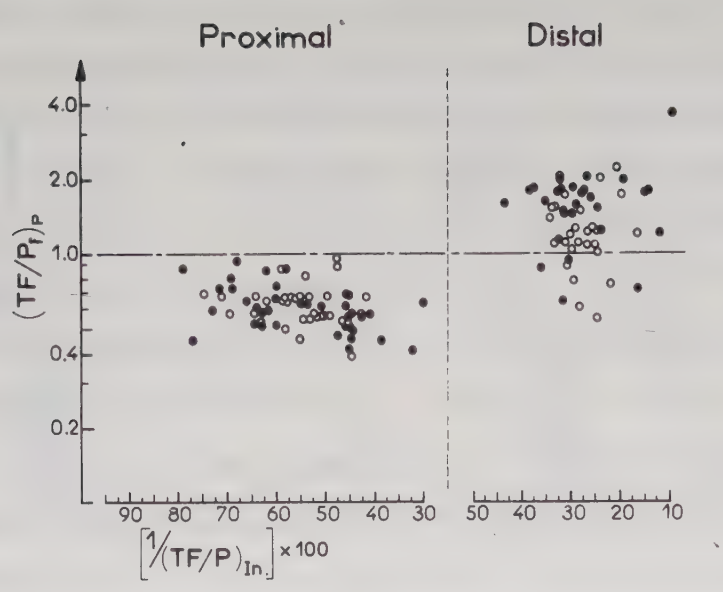

Fig. 24

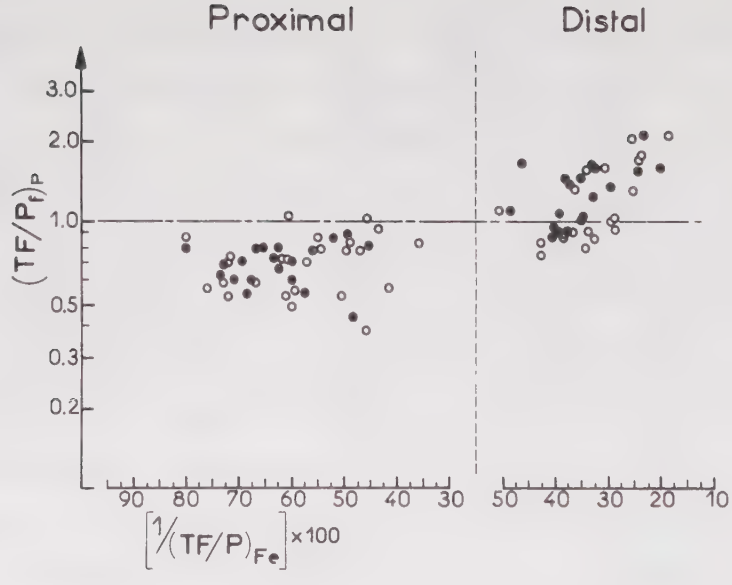

Fig. 25

Fig. 24 et 25 : (TF/P_f) du phosphore dans l'ensemble des microponctions réalisées pendant (o) ou après (•) la surcharge en magnésium (Série Mg-I : 24 ; Série Mg-F : 25

expérimentales MgI et MgF. Le protocole suivi et la nature des solutions perfusées ont été décrits dans les chapitres I et II.

A. Résultats

1. Plasmas (fig. 23)

Les concentrations du phosphore dans l'ultrafiltrat plasmatique diminuent significativement pendant la surcharge en magnésium chez les animaux du groupe Mg I comme chez ceux du groupe Mg F. Les valeurs moyennes obtenues dans ces conditions sont respectivement de 1.50 ± 0.06 ($N = 12$) et 1.97 ± 0.14 ($N = 14$) mM/l. Au cours de la troisième période, la phosphatémie, qui remonte légèrement chez les rats non diurétiques [$(P_f)_P = 1.58 \pm 0.09$; $N = 11$], continue à baisser en présence de ferrocyanure [$(P_f)_P = 1.89 \pm 0.11$; $N = 13$]. La calcémie, constante tout au long de l'expérience dans la première série $(P_f)_{Ca} = 1.41 \pm 0.06$ ($N = 15$), 1.39 ± 0.04 ($N = 15$), 1.37 ± 0.04 ($N = 15$) mM/l pour les périodes 1, 2 et 3, s'abaisse pendant la perfusion de la solution enrichie dans la seconde [$(P_f)_{Ca} = 1.22 \pm 0.03$; $N = 15$] et reste à ce niveau durant la phase de retour aux conditions initiales.

2. Fluide tubulaire et urine définitive

a) Phosphore

Les résultats obtenus sur l'ensemble des microponctions sont illustrés par les figures 19, 24 et 25 et consignés dans le tableau XVI. Ceux qui ont trait aux recollections sont donnés dans les tableaux XVII et XVIII. Chez les animaux non diurétiques, on ne note aucune différence dans le comportement tubulaire, dans les segments accessibles, du phosphore sous l'effet de la surcharge par le magnésium comme durant la phase de retour aux conditions initiales. Les valeurs respectives prises par le rapport (TF/P_f) sont alors de 0.63 ± 0.02 ($N = 37$) et 0.61 ± 0.02 ($N = 39$) à la fin du TCP et de 1.26 ± 0.08 ($N = 28$) et 1.59 ± 0.11 ($N = 27$) au début du TCD. L'élévation observée dans ce dernier cas est très significative ($P < 0.005$) mais ne traduit que l'augmentation de la réabsorption de l'eau dans l'anse de Henlé. Les débits relatifs proximaux et distaux restent identiques tout au long de l'expérience et l'intensité des mouvements nets de P dans l'anse

est toujours pratiquement nulle. L'excrétion urinaire du phosphore, constante pendant la première heure de perfusion par la solution riche en Mg, diminue ensuite et se maintient jusqu'à la fin de l'expérience à un niveau tel que 10 % du filtrat glomérulaire soient excrétés. La comparaison des clearances relatives au début du tubule distal et dans l'urine définitive montre que la fraction réabsorbée dans la partie terminale des néphrons passe de 12 % pendant la période de contrôle à 18, puis 32 % au cours des deux phases suivantes. Par suite de l'abaissement de la phosphatémie et la constance de la filtration glomérulaire, les quantités absolues réabsorbées entre le glomérule et la sortie de l'anse sont diminuées (1.231, 1.141, 0.946 µM/mn/rein pour les périodes 1, 2 et 3). La stimulation des mouvements nets le long des TCD et (ou) des canaux collecteurs (période 1 : 0.226, P_2 = 0.315 ; P_3 = 0.522 µM/mn/rein) est telle que la réabsorption totale reste identique à celle du départ (1.457, 1.457, 1.468 µm/mn/rein).

L'utilisation de ferrocyanure de sodium comme indicateur glomérulaire n'entraîne aucune modification dans le tubule contourné proximal des phénomènes décrits pour l'inuline tritiée. A l'entrée du tubule distal, par contre, le $(TF/P_f)_P$ passe de 2.22 ± 0.15 à 1.21 ± 0.10 et le débit résiduel de 0.48 ± 0.03 à 0.37 ± 0.02, ces deux différences étant significatives comme le montre le tableau XVII. Dans le même temps, la clearance relative reste constante dans l'urine définitive et, compte tenu de l'abaissement de la phosphatémie, la quantité absolue réabsorbée dans la partie terminale décroît (0.225 contre 0.463 µM/mn/rein). Elle reprend sa valeur initiale au cours de la troisième période (0.472 µM/mn/rein).

b) Calcium

Chez les rats de la série MgI, l'hypermagnésémie est associée à une diminution significative ($P < 0.001$) de la concentration intratubulaire proximale du calcium (fig. 26, tableaux XIX, XX). Le $(TF/P_f)Ca$ passe de 1.05 ± 0.04 à 0.97 ± 0.03 (N = 36) et se maintient à cette valeur pendant la suite de l'expérience. Néanmoins, la fraction du filtrat encore présente à la fin du TCP n'est pas différente d'une période à l'autre (1. = 0.51 ± 0.02 (31) ; 2 = 0.53 ± 0.02 (35) ; 3 = 0.53 ± 0.02 (37) ; figure 15). De l'examen du

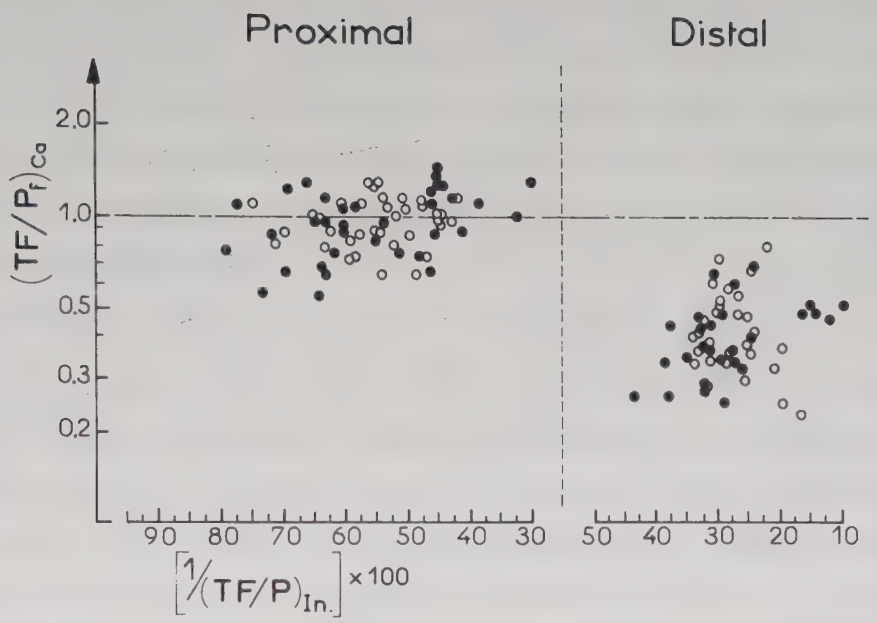

Fig. 26

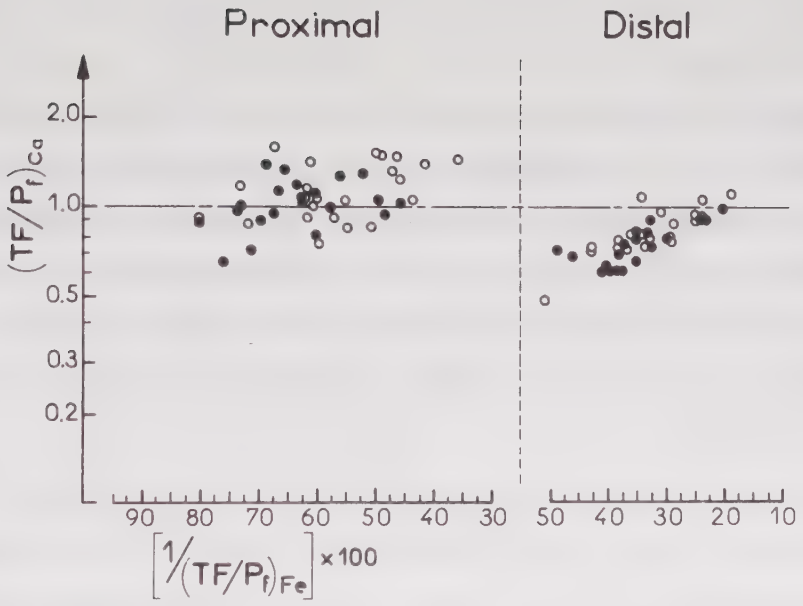

Fig. 27

Fig. 26 et 27 : (TF/P_f) du Calcium dans l'ensemble des microponctions réalisées pendant (o) ou après (•) la surcharge en magnésium (Série Mg-I : 26 ; Série Mg-F : 27)

tableau XX, il ressort que dans les échantillons recollectionnés à l'entrée du tubule distal, la concentration du Ca augmente de façon significative [$(TF/P_f)Ca = 0.33 \pm 0.03$ (I) et 0.44 ± 0.04 (II) $N = 17$ $P < 0.05$] au cours de la surcharge. Il en est de même du débit résiduel (F. E. = 0.08 ± 0.01 (I) et 0.12 ± 0.01 (II) $N = 17$ $P < 0.025$). Durant la phase de retour aux conditions initiales, le (TF/P_f) et le $(TF/P_f)/(TF/P)_{In}$ sont respectivement égaux à 0.41 ± 0.02 ($N = 28$) et 0.11 ± 0.01 ($N = 28$). L'augmentation de la fraction du filtrat présente à la sortie de l'anse se retrouve dans l'urine urétérale où la clearance relative s'élève pendant tout le temps de la surcharge (fig. 24). La valeur obtenue (4 %) est plus de quatre fois supérieure à celle du départ. Après l'arrêt de la perfusion de Mg, elle retourne rapidement à son niveau de départ. Alors que le rein filtre 1.469, 1.627 et 1.416 durant les périodes 1, 2 et 3, les quantités absolues réabsorbées sont respectivement de 0.720, 0.863, 0.666 dans le TCP, 0.631, 0.571, 0.595 dans l'anse, et 0.104, 0.130, 0.139 µM/mn/rein dans la partie terminale des néphrons.

Dans la série Mg-F (fig. 27), le $(TF/P_f)Ca$ reste constant, au cours de l'hypermagnésémie, dans le tubule proximal et diminue dans les échantillons prélevés à l'entrée du tubule distal [0.83 ± 0.03 ($N = 20$) contre 1.16 ± 0.09 ($N = 13$)]. Cette différence est significative si l'on considère les résultats relatifs aux recollections (tableau XXI). Cet abaissement de la concentration du Ca est associé à celui du $(TF/P_f)Fe$ et les débits résiduels proximaux ou distaux sont inchangés (fig. 19). La même évolution se retrouve pendant la troisième période [$(TF/P_f)Ca = 0.74 \pm 0.03$ $N = 19$; F. E. Ca = 0.25 ± 0.01 $N = 19$]. La clearance relative de ce cation est augmentée dans l'urine urétérale (0.19 ± 0.01 $N = 10$) durant la surcharge, mais revient très vite à son niveau de départ après l'arrêt de la perfusion de la solution enrichie (0.08 ± 0.01 $N = 8$). La comparaison des débits relatifs à l'entrée du TCD et dans l'urine définitive montre que la fraction du filtrat, qui est réabsorbée le long de la partie terminale des néphrons, passe de 15 à 7 puis 17 %, ce qui représente en quantité absolue 0.199, 0.081 et 0.209 µM/mn/rein. Il apparaît, au cours de la seconde période, une corrélation positive très significative entre les (TF/P_f) du Fe et du Ca ($r = 0.78$ $N = 20$) et qui se maintient durant la troisième ($r = 0.84$ $N = 19$).

c) Interrelations Mg-P et Mg-Ca

L'effet de l'hypermagnésémie sur les interrelations entre le magnésium et le phosphore se manifeste au début du tubule contourné distal sous la forme d'une corrélation inverse très significative ($r = -0.69$ $N = 28$) entre les (TF/P_f) de ces éléments (fig. 28). Si l'on exprime les résultats en concentration, cette liaison persiste, mais le coefficient obtenu en est inférieur ($r = 0.54$ $N = 23$). Dans l'urine urétérale, par contre, les concentrations ($r = 0.52$ $N = 6$) et les clearances ($r = 0.42$ $N = 8$) sont indépendantes. Au cours de la troisième période, on retrouve la corrélation distale observée pendant la seconde et les coefficients obtenus sont de - 0.61 ($N = 27$) pour les (TF/P_f) et de - 0.63 ($N = 21$) pour les concentrations. Les clearances correspondantes, dans l'urine définitive, ne sont pas reliées de façon significative ($r = 0.13$ $N = 8$). La présence de ferrocyanure inverse le signe du r des corrélations distales ($r = +0.51$ dans les périodes II et III) et durant la phase de retour aux conditions initiales fait apparaître une liaison entre les (TF/P_f) dans le tubule contourné proximal ($r = - 0.68$ $N = 28$).

Il existe, pendant la surcharge, des corrélations significatives entre les (TF/P_f) du Mg et du Ca au niveau proximal ($r = 0.48$ $N = 36$) et distal ($r = 0.58$ $N = 28$) et entre les clearances dans l'urine urétérale ($r = 0.86$ $N = 10$). Au cours de la troisième période, seule la relation proximale est conservée ($r = 0.57$ $N = 38$). Elle est encore observée à l'entrée du tubule distal ($r = 0.72$ $N = 19$) chez les animaux de la série MgF.

B. Discussion

La surcharge en magnésium ne s'accompagne, en ce qui concerne le phosphore, d'aucune modification significative du (TF/P_f) ou de la fraction du filtrat encore présente au point de ponction, aussi bien pour les échantillons de fluide intratubulaire proximaux que pour les distaux. La diminution de la clearance relative du phosphore, dans l'urine urétérale, qui se manifeste après un temps de latence voisin de une heure, résulte donc soit d'une augmentation de la réabsorption dans la partie terminale des né-

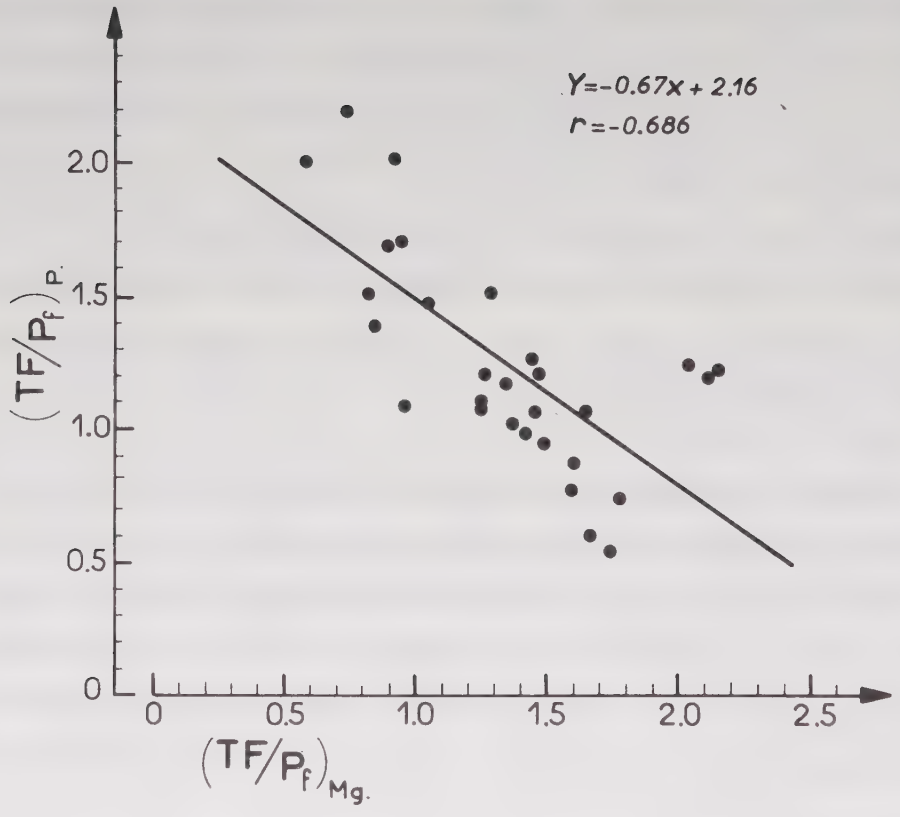

Fig. 28 : Corrélation entre les (TF/P_f) du phosphore et du magnésium mesurés à l'entrée du tubule distal au cours de la surcharge en Mg (Série Mg-I).

phrons (TCD + CC), soit d'un changement dans la participation à l'élaboration de cette urine des tubules situés plus profondément dans le cortex. Compte tenu de l'importance relative des différentes populations de néphrons dans le rein du rat (104, 105) et de leur taux respectif de filtration glomérulaire (106, 107), cette dernière hypothèse conduirait à admettre que les néphrons moyens et juxtamédullaires réabsorbent la totalité du phosphore qui leur est délivrée. Une augmentation de la réabsorption distale, telle qu'elle a été envisagée par AMIEL, KUNTZIGER et RICHET (7) est beaucoup plus plausible. La persistance de l'effet, après l'arrêt de la surcharge et le retour de la magnésémie à une valeur proche de celle du départ, semble indiquer que la concentration en Mg, si elle joue un rôle, n'est pas le facteur essentiel. L'hypermagnésémie par elle-même est susceptible d'inhiber la secrétion de la parathormone (45, 46, 50) et peut-être aussi de stimuler celle de la thyrocalcitonine (TCT) (99), chez le rat. Cette dernière hormone a été considérée longtemps comme hyperphosphaturiante (6, 35, 43, 59, 82), mais depuis ces dernières années cette action a été remise en question et certains auteurs pensent que la TCT n'agit pas sur l'excrétion du P (101, 138) alors que d'autres trouvent qu'elle la diminue (62, 70, 94). Dans cette dernière hypothèse, la stimulation de la secrétion de TCT ne permet cependant pas d'expliquer l'hypophosphaturie obtenue ici car le délai enregistré est nettement supérieur au temps habituel de réponse de l'hormone, et surtout PECHET et col. (94) ont montré que l'hypermagnésémie en elle-même était capable d'en masquer les effets. L'action inhibitrice de la PTH sur la réabsorption du phosphore par le rein est par contre reconnue de tous (1, 53, 54, 117, 118) et plusieurs arguments plaident en faveur de son intervention :
1) le délai entre le début de la perfusion et l'apparition du phénomène est tout à fait comparable à celui observé lors des surcharges en phosphore chez les animaux de la série P.- 2) la persistance de l'effet, après l'arrêt de la perfusion par le Mg et le retour à un niveau plasmatique pratiquement normal, est compatible avec l'intervention d'un processus hormonal. -
3) bien que le site d'action principal de la PTH sur la réabsorption du phosphore ait été placé, par suite des expériences de diurèse interrompue réalisées par LAMBERT et col. (65) et SAMIY et col. (110) dans le segment contourné proximal, les travaux récents de AMIEL et col. (7) utilisant la technique des microponctions ont amené ces auteurs à formuler l'hypothèse

d'un autre site, plus distal, correspondant à la partie terminale des néphrons. Dans le même travail, ils ont également montré que l'évolution du (TF/P)P, indépendante de celle du (TF/P)In dans le TCP chez les animaux normaux, lui était reliée par un coefficient de corrélation négatif chez les parathyroïdectomisés. Bien que les fractions du filtrat encore présentes aux points de ponctions soient identiques au cours des périodes 1, 2 et 3 chez nos rats, une telle corrélation ($r = -0.47$ $N = 37$) apparaît après la surcharge malgré les variations faibles du $(TF/P)_{In}$ imposées par la localisation tardive de nos prélèvements. Elle existe d'ailleurs déjà, quoique non significative, durant la dernière demi-heure de la perfusion par la solution de Mg ($r = -0.35$ $N = 16$). Dans le même temps, la réabsorption qui intervient dans la partie terminale des néphrons augmente. Il semble, en conclusion, que les modifications dans l'excrétion du phosphore, qui suivent l'hypermagnésémie, résultent d'une inhibition partielle de la secrétion de PTH. Elles se traduisent par une réabsorption continue le long du tubule contourné proximal, contrairement à ce qui se passe chez les témoins, qui n'entraîne pas de variation de la fraction du filtrat délivrée à l'anse de Henlé et une stimulation de la réabsorption dans la partie terminale des néphrons.

Une telle inhibition devrait également se répercuter sur le comportement tubulaire du calcium. Depuis les travaux de TALMAGE et KRAINTZ (117, 118), confirmés par ceux de nombreux auteurs (14, 60), on sait en effet que la parathormone possède une action stimulatrice sur la réabsorption de ce cation. Les expériences de diurèse interrompue de WIDROW et LEVINSKY (135) ont permis de la situer au niveau de la partie terminale des néphrons. Elles ont été confirmées en partie par celles de microperfusion de FRICK et col. (39) qui ont montré que la réabsorption proximale de Ca était indépendante de la présence de PTH.

On s'attend donc à une augmentation de l'excrétion de ce cation au cours de la troisième période. En réalité, ce phénomène survient dès le début de la surcharge par le magnésium. Et, contrairement à ce qu'on observe avec le phosphore, il n'y a aucun temps de latence. La diminution de réabsorption résulte de l'inhibition partielle des mécanismes de transport situés dans l'anse de Henlé. Par contre, les mouvements nets le long

de la partie terminale des néphrons sont stimulés. Durant la phase de retour vers les conditions initiales, cette inhibition persiste, mais la clearance relative, calculée pour les échantillons d'urine urétérale, retourne vers sa valeur initiale par suite de l'augmentation de la réabsorption le long du TCD et (ou) des canaux collecteurs. Il apparaît donc, lors de ces expériences, une contradiction entre les comportements tubulaires simultanés du calcium et du phosphore et les données courantes de la littérature sur l'action de la PTH. Il est probable qu'elle résulte, en partie, du fait que la concentration d'un des éléments (Mg, P, Ca) à elle seule agit sur la réabsorption des deux autres. Ainsi l'effet sur le transport de Ca dans l'anse de Henlé, pendant la surcharge, est sans doute directement relié à l'hypermagnésémie puisque MACRAE (75) et CLARK (30) ont montré que l'hypercalciurie se manifestait même en l'absence des parathyroïdes. Sa prolongation au cours de la troisième période serait par contre la conséquence de la diminution de secrétion de PTH. Le déterminisme des phénomènes observés dans la dernière partie des néphrons pourrait également inclure les rapports des concentrations de ces éléments dans le fluide intratubulaire.

L'hypermagnésémie se traduit par l'apparition de certaines corrélations, en différents points de formation de l'urine définitive, entre le Mg et le P ou le Mg et le Ca, et la disparition de celles qui existaient auparavant. Si l'on examine d'abord le cas du phosphore et du magnésium, les (TF/P_f) à l'entrée du tubule distal sont reliés par une corrélation significative négative pendant et après la surcharge ; or une telle relation n'existe pas dans le tube proximal et le P n'est pas réabsorbé dans l'anse de Henlé. De plus, ces (TF/P_f) ne sont pas dépendants de celui de l'inuline. Dans ces conditions, la réabsorption du Mg dans l'anse de Henlé est soit de façon directe inversement proportionnelle à la concentration en P du fluide intratubulaire, soit dépendante de celle d'un ion dont le comportement est influencé par cette dernière. En ce qui concerne le calcium et le magnésium, on voit apparaître, pendant la seconde période, une corrélation positive significative entre les (TF/P_f) aux niveaux proximal et distal et entre les clearances dans l'urine urétérale. L'hypothèse d'un transporteur commun, formulée par de nombreux auteurs (15, 28, 32, 64, 77) semble donc être appuyée par les

résultats obtenus dans cet état très particulier, mais il est aussi possible d'envisager que cette "compétition" soit le résultat de la présence d'un anion accompagnateur commun (Cl-) disponible en quantité limitée.

Dans la série Mg-F, l'ampleur et le site des réponses à l'hypermagnésémie sont différents. On observe une augmentation de la fraction du phosphore filtré réabsorbé entre le glomérule et le début du tubule distal sans modification concomitante de celle du calcium. Dans l'urine urétérale par contre, la clearance relative du P reste pratiquement constante alors que celle du Ca augmente d'un facteur deux. Contrairement aux animaux de la série Mg I, on trouve une diminution de la réabsorption terminale du P et du Ca pendant la surcharge et un retour aux valeurs de départ au cours de la troisième période. Les variations de taux de secrétion de la PTH ne permettent pas, encore ici, de rendre compte à elles-seules des phénomènes observés.

CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons étudié les modalités d'excrétion du magnésium chez le rat non diurétique soumis, au cours d'expériences, à une surcharge en Mg, P ou Ca et les effets de l'hypermagnésémie sur le comportement tubulaire de ces deux derniers éléments. Les modifications de l'intensité des phénomènes de réabsorption, consécutives à l'utilisation du ferrocyanure de sodium comme indicateur glomérulaire, ont également été recherchées.

Chez le rat non diurétique la concentration du magnésium dans l'ultrafiltrat plasmatique est voisine de 0,50 mM/l et le rein excrète en moyenne 10 % du Mg qui a été filtré par les glomérules. Quand on double, par perfusion avec une solution enrichie, la magnésémie, cette fraction passe à 60 % et redescend graduellement lorsqu'on cesse la perfusion. Cet organe joue donc un rôle important dans la régulation du contenu en magnésium de l'organisme. Le comportement du Mg dans le tubule contourné proximal, chez des animaux placés dans des conditions normales, est très différent de celui des autres ions déjà étudiés et se rapproche plutôt de celui de l'urée : sa concentration dans le fluide tubulaire (TF) s'élève au fur et à mesure que l'on s'éloigne du glomérule et est plus de 1,5 fois celle de l'ultrafiltrat plasmatique (P_f) dans la dernière partie encore accessible à la microponction. Cette structure, où s'effectue d'ordinaire la plus grande partie de la réabsorption des électrolytes, ne réabsorbe dans ce cas que 20 % du Mg qui lui a été délivré. Cette fraction reste identique pendant l'hypermagnésémie ou l'hypercalcémie. Par contre, après l'hyperphosphatémie, elle augmente considérablement par suite du caractère isotonique que prend la réabsorption sous l'influence de la sécrétion accrue de parathormone. En l'absence de cette stimulation, la presque totalité du Mg pénètre dans l'ensemble formé de la pars recta et l'anse de Henlé. Les mesures réalisées sur les échantillons prélevés au début du tubule contourné distal montrent qu'en ce point la concentration du cation est nettement inférieure à celle du plasma et qu'il ne reste plus en moyenne que 16 % de la quantité filtrée. Plus de 60 % du Mg ont donc été soustraits lors du passage du fluide

dans cette partie inaccessible. Compte tenu des informations que l'on possède sur le Na, le K et le Ca, il est probable que cette réabsorption siège principalement dans la branche ascendante de l'anse. Le mécanisme par lequel elle s'effectue est actif car elle intervient contre un gradient à la fois chimique et électrique. Il est saturable : durant l'hypermagnésémie, la quantité absolue de Mg réabsorbée s'accroît, mais d'un facteur inférieur au rapport des concentrations plasmatiques correspondantes et la fraction du filtrat encore présente au début du tubule distal s'élève. Cette capacité de transport maximale apparaît d'ailleurs chez un animal pour lequel la quantité réabsorbée n'augmente pas entre la période de contrôle et celle de surcharge. Enfin, sa spécificité n'est peut-être pas absolue : pendant l'hypercalcémie et probablement en dehors de toute influence hormonale, la quantité de Mg qui est soustraite au fluide diminue, alors que pour le Ca elle s'élève, et la situation inverse se retrouve au cours de la surcharge en Mg. Il est toutefois possible que cette observation traduise l'existence d'un anion accompagnateur commun disponible en quantité limitée.

Son comportement dans la partie terminale des néphrons est fonction de la magnésémie. Dans les conditions normales, une faible fraction du filtrat (6 %) y est encore réabsorbée, alors que durant l'hypermagnésémie la clearance relative dans l'urine urétérale est de 20 % supérieure à celle mesurée au début du tubule distal. La constitution d'un gradient intrarénal, sous l'influence de la surcharge, associé à une hétérogénéité fonctionnelle des néphrons situés plus ou moins profondément dans le cortex, pourrait rendre compte de cette observation. Il paraît cependant plus vraisemblable de l'attribuer à une sécrétion le long du tubule contourné distal et (ou) des canaux collecteurs. Il dépend, de plus, de la composition du fluide à la sortie de l'anse de Henlé. Ainsi, au cours de l'hypercalcémie, la réabsorption terminale est inhibée, alors qu'elle est stimulée pendant l'hyperphosphatémie. Dans ce dernier cas, toutefois, l'effet obtenu pourrait résulter de l'abaissement de la concentration plasmatique du calcium provoqué par la surcharge en phosphore et l'hypothèse d'une compétition, directe ou par l'intermédiaire d'un anion accompagnateur commun, entre le Mg et le Ca formulée à propos des mécanismes siégeant dans l'anse de Henlé, serait alors susceptible d'être étendue à cette partie du néphron.

L'augmentation de la magnésémie, par perfusion intraveineuse d'une solution enrichie, provoque une légère diurèse sans changement de la filtration glomérulaire. La clearance relative du calcium est multipliée par un facteur quatre, alors que celle du phosphore diminue de 30%. Après l'arrêt de la perfusion, le débit urinaire et la clearance relative du calcium retournent à leurs valeurs initiales alors que la fraction du phosphore excrétée continue à s'abaisser. L'inhibition partielle de la sécrétion de parathormone, sous l'influence de l'hypermagnésémie, semble responsable de l'hyposphaturie et son effet se manifeste essentiellement dans la partie terminale des néphrons où la réabsorption est stimulée. Par contre, dans le cas du calcium, l'hypermagnésémie a un effet inhibiteur direct sur l'intensité du transport au niveau de l'anse de Henlé.

L'utilisation du ferrocyanure de sodium comme indicateur glomérulaire entraîne une augmentation du débit urinaire et de la clearance des deux cations divalents. Le comportement proximal du Mg est identique à celui décrit chez les animaux non diurétiques, alors que celui du Ca s'en distingue par le fait que sa concentration dans le fluide intratubulaire s'élève au-dessus de celle de l'ultrafiltrat plasmatique au fur et à mesure que l'on s'éloigne du glomérule. On note également une baisse de la réabsorption du phosphore le long de cette structure. Les débits relatifs de Mg et de Ca au début du tubule distal sont beaucoup plus hauts que ceux obtenus en l'absence de ce polyanion, par suite de la diminution de la réabsorption au niveau de l'anse de Henlé. Si la formation de complexe entre le ferrocyanure et le magnésium ou le calcium peut rendre compte de cette observation, elle ne permet cependant pas d'expliquer les phénomènes qui interviennent dans la partie terminale des néphrons, notamment au cours de la surcharge en Mg. L'utilisation de cet indicateur dans les études portant sur l'excrétion des électrolytes est donc à déconseiller.

APPENDICE

Série expérimentale	Indicateur glomérulaire	Débit de perfusion µl/mn.	Solution Témoin (périodes 1 et 3)	Solution de Surcharge	
				Dose initiale	Dose de soutien
Mg- *I*	^{3}H-Inuline *AS = 87 µCi./mg.* *dose initiale = 100 µCi.*	20	NaCl : *150 m M/l.* ^{3}H : *200 µ Ci./ml.*	0	NaCl : *150 m M/l.* $MgCl_2,6H_2O$: *100 mM/l.* ^{3}H-In. : *200 µCi./ml.*
Ca	^{3}H-Inuline *AS = ① 82 µCi/mg.* *② 128 µCi/mg.* *dose initiale = 100 µCi.*	20	NaCl : *150 mM/l.* ^{3}H-In. : *200 µCi/ml.*	NaCl : *50 mM/l.* $CaCl_2,2H_2O$: *150 mM/l.* ^{3}H-In. : *200 µCi/ml.* *(30 minutes)*	NaCl : *50 mM/l.* $CaCl_2,2H_2O$: *110 mM/l.* ^{3}H-In. : *200 µ Ci/ml.*
P	^{3}H-Inuline *AS = 82 µCi/mg.* *dose initiale = 100 µCi.*	50	NaCl : *150 mM/l.* ^{3}H-In. : *80 µCi/ml.*	$Na_2H PO_4$: *120 µM* $Na H_2PO_4$: *30 µM*	Na_2HPO_4 : *110 mM/l.* $Na H_2PO_4$: *27,5 mM/l.* NaCl : *12 mM/l.* ^{3}H-In. : *80 µCi/ml.*
Mg-F	$[Fe(CN)_6]Na_4$: *100 mM/l.* *dose initiale = 100 µ M.*	50	$[Fe(CN)_6]Na_4$: *100 m M/l.*	0	$[Fe(CN)_6]Na_4$: *100 mM/l.* $MgCl_2,6H_2O$: *100 mM/l.*

TABLEAU I : nature des solutions utilisées dans les différentes séries expérimentales.

TABLEAUX II et III : dans le texte.

Indicateur glomérulaire	Solution de surcharge	Mg Plasma mM/l.		
		AVS	S	APS
$[Fe(CN)_6]^{4-}$	Mg	0,56 ± 0,02 (16)	2,20 ± 0,12 (15)	1,05 ± 0,09 (13)
^{3}H–Inuline	Mg	0,49 ± 0,02 (15)	1,06 ± 0,05 (15)	0,65 ± 0,04 (15)
^{3}H–Inuline	P	0,45 ± 0,03 (12)	0,32 ± 0,03 (12)	0,38 ± 0,03 (12)
^{3}H–Inuline	Ca	0,46 ± 0,04 (12)	0,36 ± 0,04 (12)	0,34 ± 0,04 (12)

TABLEAU IV : valeurs moyennes de la concentration en magnésium de l'ultrafiltrat plasmatique avant (AVS), pendant (S) et après (APS) les différentes surcharges effectuées dans les quatre séries expérimentales.

Période		1		2		3	
Localisation		Prox	Dist	Prox	Dist	Prox	Dist
	(TF/Pf) Fe	1.93 ± 0.08 (22)	4.64 ± 0.23 (13)	1.83 ± 0.08 (24)	3.25 ± 0.18 (20)	1.62 ± 0.06 (21)	3.03 ± 0.17 (19)
Mg-F	(TF/Pf) Mg	1.59 ± 0.06 (22)	1.80 ± 0.19 (13)	1.67 ± 0.06 (24)	2.69 ± 0.12 (19)	1.40 ± 0.07 (21)	1.47 ± 0.11 (19)
	(TF/Pf) Mg/Fe	0.84 ± 0.04 (22)	0.39 ± 0.04 (13)	0.93 ± 0.03 (24)	0.86 ± 0.02 (19)	0.87 ± 0.03 (21)	0.48 ± 0.03 (19)
	(TF/P) In	2.21 ± 0.08 (31)	4.47 ± 0.20 (21)	1.86 ± 0.04 (36)	3.72 ± 0.14 (31)	1.91 ± 0.08 (37)	4.14 ± 0.37 (28)
Mg-I	(TF/Ff) Mg	1.89 ± 0.09 (31)	0.63 ± 0.06 (21)	1.51 ± 0.05 (37)	1.30 ± 0.08 (29)	1.50 ± 0.07 (39)	0.69 ± 0.06 (28)
	(TF/P) Mg/In	0.86 ± 0.03 (31)	0.15 ± 0.02 (20)	0.81 ± 0.02 (36)	0.36 ± 0.02 (28)	0.78 ± 0.02 (37)	0.20 ± 0.02 (28)
	(TF/P) In	2.04 ± 0.08 (23)	5.04 ± 0.36 (24)	1.64 ± 0.08 (28)	3.67 ± 0.21 (24)	1.71 ± 0.05 (30)	3.93 ± 0.21 (20)
P	(TF/Pf) Mg	1.63 ± 0.08 (25)	0.90 ± 0.05 (24)	1.31 ± 0.07 (28)	0.82 ± 0.11 (24)	1.10 ± 0.03 (31)	0.39 ± 0.06 (20)
	(TF/P) Mg/In	0.81 ± 0.05 (23)	0.19 ± 0.02 (24)	0.85 ± 0.06 (28)	0.25 ± 0.03 (23)	0.64 ± 0.02 (29)	0.12 ± 0.02 (20)
	(TF/P) IN	2.07 ± 0.07 (29)	4.79 ± 0.25 (19)	1.99 ± 0.08 (30)	5.16 ± 0.42 (22)	2.12 ± 0.07 (34)	5.77 ± 0.82 (14)
Ca	(TF/Pf) Mg	1.50 ± 0.07 (29)	0.52 ± 0.06 (19)	1.50 ± 0.05 (31)	1.10 ± 0.09 (23)	1.58 ± 0.03 (34)	0.69 ± 0.06 (14)
	(TF/P) Mg/In	0.73 ± 0.03 (29)	0.12 ± 0.02 (19)	0.78 ± 0.03 (30)	0.25 ± 0.03 (22)	0.76 ± 0.03 (34)	0.15 ± 0.02 (12)

TABLEAU V : valeurs moyennes des (TF/P) de l'indicateur glomérulaire et du magnésium calculées sur l'ensemble des prélèvements effectués dans les différentes conditions expérimentales (séries Mg-F, Mg-I, P et Ca). (TF/P) Mg/In = (TF/Pf) Mg/(TF/P)In . Les valeurs entre parenthèses représentent le nombre de mesures.

Indicateur glomérulaire	Solution de surcharge	Periode experimentale	N	V µl./mn.	F.G ml/mn./rein	C_{Mg} ml/mn/rein x 10^{-2}	$\frac{C_{Mg}}{F.G}$
1) Ferrocyanure de Na	Mg	AVS	11	11.95 ± 0.36	0,96 ± 0,04	22,5 ± 1,5	0,24 ± 0,02
		S	10	11,66 ± 0,60	0,94 ± 0,08	58,5 ± 6,7	0,61 ± 0,03
		APS	8	13,55 ± 1,29	1,01 ± 0,03	43,4 ± 3,1	0,43 ± 0,03
2) ^{3}H-Inuline	Mg	AVS	10	2,59 ± 0,18	1,04 ± 0,06	8,9 ± 1,5	0,08 ± 0,01
		S	10	5,81 ± 0,96	1,17 ± 0,06	66,0 ± 6,8	0,56 ± 0,04
		APS	9	2,23 ± 0,18	1,03 ± 0,11	30,1 ± 7,2	0,29 ± 0,03
	P	AVS	8	3,01 ± 0,34	1,09 ± 0,10	13,9 ± 2,5	0,12 ± 0,01
		S	8	6,97 ± 0,24	1,28 ± 0,07	11,9 ± 1,5	0,10 ± 0,01
		APS	8	3,90 ± 0,30	1,21 ± 0,09	6,2 ± 1,4	0,05 ± 0,01
	Ca	AVS	8	2,88 ± 0,25	1,07 ± 0,07	10,4 ± 1.1	0,10 ± 0,02
		S	8	7,02 ± 1,16	1,09 ± 0,07	28,2 ± 1.7	0,26 ± 0,02
		APS	8	1,04 ± 0,17	0,79 ± 0,11	5,4 ± 1,9	0,06 ± 0,02

TABLEAU VI : valeurs urinaires dans les différentes séries expérimentales.

	Proximal			Distal		
	$(TF/P)_{In}$	$(TF/Pf)_{Mg}$	F.E	$(TF/P)_{In}$	$(TF/Pf)_{Mg}$	F.E
A V S	2,23 ± 0,08 P < 0.001	1,90 ± 0,09 P < 0.001	0,86 ± 0,03 *	4,43 ± 0,21 P < 0.01	0,65 ± 0,07 P < 0.001	0,15 ± 0,02 P < 0.001
S	1,81 ± 0,05 (29)	1,49 ± 0,06 (29)	0,82 ± 0,02 (28)	3,71 ± 0,18 (18)	1,30 ± 0,09 (17)	0,36 ± 0,03 (17)
S	1,84 ± 0,04 *	1,50 ± 0,05 *	0,82 ± 0,02 *	3,68 ± 0,17 *	1,30 ± 0,09 P < 0.001	0,37 ± 0,03 P < 0.001
A P S	1,87 ± 0,08 (33)	1,48 ± 0,07 (33)	0,80 ± 0,02 (31)	4,01 ± 0,32 (24)	0,67 ± 0,06 (22)	0,19 ± 0,02 (22)
A V S	2,24 ± 0,09 P < 0.005	1,93 ± 0,10 P < 0.001	0,87 ± 0,03 *	4,45 ± 0,23 P < 0.025	0,62 ± 0,08 *	0,15 ± 0,02 P < 0.05
A P S	1,83 ± 0,09 (27)	1,41 ± 0,07 (26)	0,80 ± 0,03 (24)	3,43 ± 0,24 (14)	0,76 ± 0,05 (14)	0,24 ± 0,02 (14)

TABLEAU VII : Série Mg-I : valeurs moyennes obtenues dans les néphrons ponctionnés au moins deux fois (recollections). Les différences entre les moyennes ont été testées en comparant à zéro l'écart observé entre les recollections. * : différence non significative ; F.E : débit relatif ; A V S, S, A P S : avant, pendant et après surcharge. Valeurs entre parenthèses : nombre de néphrons reponctionnés.

		1	2	3
Mg-I	Proximal n = 23	6.65 ±1.60	P < 0.001 19.84 ±3.06	N.S 14.27 ± 2.22
	Distal n = 12	42.59 ±2.67	P < 0.001 66.90 ±4.93	P < 0.01 51.32 ± 2.92
Mg-F	Proximal n = 17	8.12 ± 2.35	N.S 15.94 ± 6.62	N.S 15.49 ± 5.14
	Distal n = 10	34.33 ± 1.80	N.S 35.08 ±6.52	P < 0.005 51.33 ± 3.58

TABLEAU VIII : moyennes des quantités absolues de Mg réabsorbées (QAR) dans les néphrons ponctionnés trois fois dans les séries MgI et MgF. Les résultats sont exprimés en pM/min/nl SGFR.

Proximal : QAR entre le glomérule et la ponction proximale
Distal : QAR entre le glomérule et la ponction distale.

	1			2			3		
	G-P	G-D	G-U	G-P	G-D	G-U	G-P	G-D	G-U
Rat 1	0,134	0,372	0,421	0,469	0,876	0,720	0,083	0,495	0,533
Rat 2	0,131	0,578	0,617	0,245	0,568	0,274	0,072	0,353	0,325
Rat 3	-0,002	0,462	0,490	0,038	0,742	0,396	0,095	0,700	0,456
Rat 4	0,030	0,356	0,390	0,172	0,824	0,591	0,173	0,553	0,491
Rat 5	0,106	0,411	0,440	0,292	0,901	0,703	0,271	0,598	0,507

TABLEAU IX : quantités absolues de Mg réabsorbées (QAR) en différents segments des néphrons chez les animaux de la série MgI au cours des trois périodes expérimentales. Les résultats sont exprimés en μM/min. G-P, G-D, G-U : segment compris entre le glomérule (G) et le site de prélèvement (P = proximal, D = distal, U = urine urétérale).

Série	Mg - I			Mg - F			P			Cq		
Période	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
(Pf) Mg mM / l	0,49	1,06	0,65	0,56	2,20	1,05	0,45	0,33	0,39	0,47	0,36	0,34
Prox	0,07	0,24	0,15	0,09	0,15	0,14	0,09	0,06	0,17	0,14	0,09	0,07
AH	0,36	0,56	0,39	0,24	0,15	0,41	0,30	0,25	0,25	0,31	0,21	0,16
Dist	0,43	0,80	0,54	0,33	0,29	0,55	0,40	0,32	0,42	0,44	0,29	0,23
TCD + CC	0,03	- 0,25	- 0,06	0,09	0,52	0,05	0,03	0,07	0,03	0,01	- 0,01	0,02
UU	0,47	0,55	0,49	0,41	0,81	0,61	0,43	0,38	0,45	0,45	0,29	0,25

TABLEAU X : valeurs plasmatiques et quantités absolues réabsorbées (QAR) dans les différents segments de néphron au cours des trois périodes de chacune des séries expérimentales. Les résultats sont exprimés en µM/min. Prox : tubule contourné proximal ; AH : anse de Henlé ; Dist : partie comprise entre le glomérule et le début du tubule distal ; TCD + CC : tubule contourné distal + canal collecteur ; UU : urine urétérale.

	Proximal			Distal		
	(TF/Pf) Fe	(TF/Pf) Mg	F.E	(TF/Pf) Fe	(TF/Pf)Mg	F.E
A V S	1,87 ± 0,08 *	1,57 ± 0,06 *	0,86 ± 0,04 *	4,60 ± 0,24 P < 0.005	1,87 ± 0,22 P < 0.001	0,40 ± 0,04 P < 0.001
S	1,80 ± 0,07 (19)	1,65 ± 0,07 (19)	0,92 ± 0,03 (19)	3,65 ± 0,22 (12)	2,93 ± 0,16 (11)	0,82 ± 0,02 (11)
S	1,84 ± 0,09 P < 0.005	1,69 ± 0,07 P < 0.001	0,93 ± 0,03 *	3,32 ± 0,20 P < 0.005	2,75 ± 0,13 P ≤ 0.001	0,86 ± 0,02 P < 0.001
A P S	1,62 ± 0,06 (20)	1,41 ± 0,07 (20)	0,87 ± 0,03 (20)	3,05 ± 0,18 (18)	1,44 ± 0,13 (17)	0,47 ± 0,03 (17)
A V S	1,87 ± 0,09 P < 0.005	1,58 ± 0,07 *	0,86 ± 0,04 *	4,72 ± 0,22 P < 0.001	1,86 ± 0,22 *	0,39 ± 0,04 *
A P S	1,61 ± 0,06 (17)	1,39 ± 0,07 (17)	0,86 ± 0,04 (17)	3,35 ± 0,24 (11)	1,62 ± 0,15 (11)	0,48 ± 0,04 (11)

TABLEAU XI : Série Mg-F : valeurs moyennes dans les recollections. Les symboles ont été précisés dans le tableau VII.

	Proximal			Distal		
	$(TF/P)_{In}$	$(TF/P_f)_{Mg}$	F.E	$(TF/P)_{In}$	$(TF/P_f)_{Mg}$	F.E
A V S	1,97 ± 0,08 P < 0.001	1,66 ± 0,09 P < 0.005	0,87 ± 0,05 *	4,72 ± 0,25 P < 0.01	0,92 ± 0,06 *	0,20 ± 0,02 P < 0.1
S	1,56 ± 0,08 (20)	1,37 ± 0,06 (22)	0,94 ± 0,05 (20)	3,69 ± 0,26 (19)	0,93 ± 0,11 (18)	0,28 ± 0,04 (18)
S	1,65 ± 0,09 *	1,31 ± 0,07 P < 0.01	0,84 ± 0,06 P < 0.005	3,67 ± 0,26 *	0,84 ± 0,14 P < 0.01	0,26 ± 0,04 P < 0.01
A P S	1,73 ± 0,05 (26)	1,12 ± 0,03 (28)	0,65 ± 0,02 (26)	3,85 ± 0,22 (19)	0,44 ± 0,06 (18)	0,13 ± 0,02 (18)
A V S	1,96 ± 0,08 P < 0.025	1,66 ± 0,09 P < 0.001	0,88 ± 0,05 P < 0.005	5,01 ± 0,41 P < 0.05	0,87 ± 0,06 P < 0.001	0,19 ± 0,02 P < 0.1
A P S	1,68 ± 0,06 (19)	1,13 ± 0,04 (22)	0,67 ± 0,03 (18)	3,95 ± 0,24 (16)	0,42 ± 0,08 (16)	0,12 ± 0,03 (16)

TABLEAU XII : effet de la surcharge en phosphore sur les mouvements nets d'eau et de Mg dans les néphrons reponctionnés.

	Proximal			Distal		
	(TF/P)In	(TF/Pf) Mg	F.E	(TF/P) In	(TF/Pf) Mg	F.E
A V S	2,04 ± 0,07 *	1,51 ± 0,07 *	0,74 ± 0,03 *	4,67 ± 0,28 *	0,54 ± 0,06 P < 0.001	0,13 ± 0,02 P < 0.001
S	1,92 ± 0,07 (24)	1,51 ± 0,05 (25)	0,81 ± 0,03 (24)	4,96 ± 0,46 (16)	1,13 ± 0,11 (16)	0,26 ± 0,03 (16)
S	1,95 ± 0,08 P < 0.025	1,48 ± 0,05 *	0,79 ± 0,03 *	5,11 ± 0,59 *	1,02 ± 0,15 P < 0.05	0,23 ± 0,04 *
A P S	2,08 ± 0,08 (23)	1,59 ± 0,07 (24)	0,78 ± 0,03 (23)	5,25 ± 0,77 (11)	0,72 ± 0,08 (11)	0,16 ± 0,02 (11)
A V S	2,02 ± 0,07 *	1,50 ± 0,08 *	0,78 ± 0,03 *	6,27 ± 1,11 *	0,74 ± 0,08 *	0,15 ± 0,02 *
A P S	2,08 ± 0,08 (22)	1,62 ± 0,07 (22)	0,78 ± 0,03 (22)	6,27 ± 1,11 (10)	0,74 ± 0,08 (10)	0,15 ± 0,02 (10)

TABLEAU XIII : effet de la surcharge en calcium sur les mouvements nets d'eau et de Mg dans les néphrons reponctionnés.

Série	$(P_f)P$ mM/l	Proximal (TF/P_f)	Proximal F.E.	Distal (TF/P_f)	Distal F.E.	Urine F.E.
I - Mg-l	1.82 ± 0.10 (12)	0.67 ± 0.02 (32)	0.31 ± 0.02 (32)	1.47 ± 0.08 (21)	0.35 ± 0.03 (20)	0.25 ± 0.02 (6)
II - P	1.48 ± 0.04 (12)	0.73 ± 0.03 (25)	0.37 ± 0.02 (23)	1.73 ± 0.09 (24)	0.36 ± 0.02 (24)	0.24 ± 0.01 (8)
III - Ca	2.25 ± 0.15 (12)	0.70 ± 0.02 (29)	0.34 ± 0.01 (29)	1.57 ± 0.08 (19)	0.34 ± 0.02 (19)	0.22 ± 0.02 (8)
IV - Mg-F	2.41 ± 0.09 (16)	0.81 ± 0.03 (21)	0.44 ± 0.03 (21)	2.22 ± 0.15 (13)	0.48 ± 0.03 (13)	0.28 ± 0.02 (11)

Tableau XIV : Valeurs plasmatiques, tubulaires et urétérales du phosphore dans chaque série. Expérimentale au cours de la période de contrôle.

Série	Plasma (mM/l)		Proximal		Distal		Urine
	Ca total	$(Pf)_{Ca}$	(TF/Pf)	F.E	(TF/Pf)	F.E	F.E × 10^2
I Mg-I		1,41 ± 0,06 (15)	1,09 ± 0,04 (31)	0,51 ± 0,02 (31)	0,33 ± 0,02 (21)	0,077 ± 0,011 (20)	0,90 ± 0,91 (10)
II P	2,35 ± 0,06 (10)	1,43 ± 0,01 (11)	0,91 ± 0,02 (25)	0,46 ± 0,02 (23)	0,37 ± 0,02 (24)	0,079 ± 0,007 (24)	1,26 ± 1,28 (8)
III Ca	2,46 ± 0,06 (9)	1,49 ± 0,04 (11)	1,04 ± 0,03 (29)	0,51 ± 0,02 (29)	0,36 ± 0,02 (19)	0,083 ± 0,009 (19)	2,14 ± 1,92 (7)
IV Mg-F		1,32 ± 0,05 (16)	1,24 ± 0,05 (22)	0,65 ± 0,02 (22)	1,16 ± 0,09 (13)	0,26 ± 0,02 (13)	10,5 ± 0,7 (11)

TABLEAU XV : valeurs plasmatiques, tubulaires et urétérales du calcium dans chaque série expérimentale au cours de la période de contrôle.

Période	Série	Proximal			Distal			Urine
		$(TF/P)_{I.G}$	$(TF/P_f)P$	F.E(P)	$(TF/P)_{I.G}$	$(TF/P_f)P$	F.E(P)	F.E(P)
2	Mg-I	1,86 ± 0,04 (36)	0,63 ± 0,02 (37)	0,35 ± 0,01 (36)	3,78 ± 0,13 (30)	1,26 ± 0,08 (28)	0,35 ± 0,02 (28)	0,18 ± 0,03 (6)
	Mg-F	1,83 ± 0,08 (24)	0,72 ± 0,03 (24)	0,41 ± 0,02 (24)	3,25 ± 0,18 (20)	1,21 ± 0,10 (20)	0,37 ± 0,02 (20)	0,28 ± 0,03 (10)
3	Mg-I	1,91 ± 0,08 (38)	0,61 ± 0,02 (39)	0,34 ± 0,02 (37)	4,15 ± 0,37 (28)	1,59 ± 0,11 (27)	0,42 ± 0,03 (27)	0,10 ± 0,03 (5)
	Mg-F	1,61 ± 0,06 (21)	0,69 ± 0,03 (21)	0,44 ± 0,02 (21)	3,02 ± 0,17 (19)	1,30 ± 0,08 (19)	0,44 ± 0,03 (19)	0,20 ± 0,02 (8)

TABLEAU XVI : effet d'une surcharge en magnésium sur le comportement tubulaire et l'excrétion urinaire du phosphore
A - Résultats d'ensemble

	Proximal			Distal		
	$(TF/P)_{In}$	$(TF/Pf)P$	F.E	$(TF/P)_{In}$	$(TF/Pf)P$	F.E
A V S	2,23 ± 0,08 P < 0.001	0,67 ± 0,02 *	0,32 ± 0,02 *	4,43 ± 0,21 P < 0.01	1,40 ± 0,09 *	0,33 ± 0,03 *
S	1,81 ± 0,05 (29)	0,63 ± 0,02 (30)	0,35 ± 0,01 (29)	3,71 ± 0,18 (18)	1,26 ± 0,11 (17)	0,34 ± 0,03 (16)
S	1,84 ± 0,04 *	0,63 ± 0,02 *	0,35 ± 0,01 *	3,68 ± 0,17 *	1,25 ± 0,07 P < 0.005	0,35 ± 0,03 *
A P S	1,87 ± 0,08 (33)	0,61 ± 0,02 (34)	0,35 ± 0,02 (32)	4,01 ± 0,32 (24)	1,51 ± 0,09 (21)	0,41 ± 0,04 (21)
A V S	2,24 ± 0,09 P < 0.005	0,68 ± 0,03 P < 0.05	0,32 ± 0,02 *	4,45 ± 0,23 P < 0.025	1,37 ± 0,07 *	0,33 ± 0,03 *
A P S	1,83 ± 0,09 (27)	0,61 ± 0,03 (28)	0,36 ± 0,03 (26)	3,43 ± 0,24 (14)	1,43 ± 0,12 (15)	0,45 ± 0,05 (14)

TABLEAU XVII : B - Résultats des recollections Série Mg-I

	Proximal			Distal		
	$(TF/P_f)Fe$	$(TF/P_f)P$	F.E	$(TF/P_f)Fe$	$(TF/P_f)P$	F.E
A V S	1,87 ± 0,08 *	0,78 ± 0,03 *	0,44 ± 0,03 *	4,60 ± 0,24 P < 0.005	2,12 ± 0,16 P < 0.001	0,48 ± 0,03 P < 0.001
S	1,80 ± 0,07 (19)	0,70 ± 0,04 (19)	0,40 ± 0,03 (19)	3,65 ± 0,22 (12)	1,39 ± 0,13 (12)	0,38 ± 0,01 (12)
S	1,84 ± 0,09 P < 0.005	0,72 ± 0,04 *	0,41 ± 0,03 *	3,32 ± 0,20 P < 0.005	1,22 ± 0,1 *	0,37 ± 0,03 P < 0.001
A P S	1,62 ± 0,06 (20)	0,69 ± 0,03 (20)	0,44 ± 0,03 (20)	3,05 ± 0,18 (18)	1,30 ± 0,08 (18)	0,43 ± 0,03 (18)
A V S	1,87 ± 0,09 P < 0.005	0,79 ± 0,04 P < 0.01	0,44 ± 0,03 *	4,72 ± 0,22 P < 0.001	2,20 ± 0,18 P < 0.01	0,46 ± 0,03 P < 0.05
A P S	1,61 ± 0,06 (17)	0,69 ± 0,03 (17)	0,43 ± 0,02 (17)	3,35 ± 0,24 (11)	1,37 ± 0,10 (11)	0,41 ± 0,02 (11)

TABLEAU XVIII : C - Résultats des recollections Série Mg-F.

Période	Série	Proximal		Distal		Urine
		(TF/Pf)	F.E	(TF/Pf)	F.E	F.E
2	Mg-I	0,97 ± 0,03 (36)	0,53 ± 0,02 (35)	0,45 ± 0,03 (28)	0,12 ± 0,01 (28)	0,04 ± 0,01 (10)
	Mg-F	1,15 ± 0,05 (23)	0,64 ± 0,03 (23)	0,83 ± 0,03 (20)	0,26 ± 0,01 (20)	0,19 ± 0,01 (10)
3	Mg-I	0,97 ± 0,04 (39)	0,53 ± 0,02 (37)	0,41 ± 0,02 (28)	0,11 ± 0,01 (28)	0,01 ± 0,01 (8)
	Mg-F	1,03 ± 0,04 (21)	0,64 ± 0,03 (21)	0,74 ± 0,03 (19)	0,25 ± 0,01 (19)	0,08 ± 0,01 (8)

TABLEAU XIX : effet d'une surcharge en magnésium sur le comportement tubulaire et l'excrétion urinaire du calcium. A - Résultats d'ensemble.

	Proximal			Distal		
	$(TF/P)_{In}$	$(TF/Pf)_{Ca}$	F.E	$(TF/P)_{In}$	$(TF/Pf)_{Ca}$	F.E
A V S	2,23 ± 0,08 P < 0.001	1,09 ± 0,04 P < 0.001	0,51 ± 0,03 *	4,43 ± 0,21 P < 0.01	0,33 ± 0,03 P < 0.05	0,08 ± 0,01 P < 0.025
S	1,81 ± 0,05 (29)	0,98 ± 0,04 (28)	0,54 ± 0,02 (27)	3,71 ± 0,18 (18)	0,44 ± 0,04 (17)	0,12 ± 0,01 (17)
S	1,84 ± 0,04 *	0,98 ± 0,03 *	0,54 ± 0,02 *	3,68 ± 0,17 *	0,44 ± 0,03 *	0,12 ± 0,01 *
A P S	1,87 ± 0,08 (33)	0,97 ± 0,04 (33)	0,53 ± 0,03 (31)	4,01 ± 0,32 (24)	0,40 ± 0,02 (21)	0,11 ± 0,01 (21)
A V S	2,24 ± 0,09 P < 0.005	1,09 ± 0,04 P < 0.001	0,50 ± 0,03 *	4,45 ± 0,23 P < 0.025	0,31 ± 0,03 P < 0.005	0,07 ± 0,01 P < 0.01
A P S	1,83 ± 0,09 (27)	0,94 ± 0,05 (28)	0,53 ± 0,03 (26)	3,43 ± 0,24 (14)	0,42 ± 0,03 (15)	0,13 ± 0,01 (14)

TABLEAU XX : B - Résultats des recollections Série Mg-I.

	Proximal			Distal		
	$(TF/Pf)Fe$	$(TF/Pf)Ca$	F.E	$(TF/Pf)Fe$	$(TF/Pf)Ca$	F.E
A V S	1,87 ± 0,08 *	1,20 ± 0,04 *	0,65 ± 0,02 *	4,60 ± 0,24 P < 0.005	1,16 ± 0,09 P < 0.025	0,26 ± 0,02 *
S	1,80 ± 0,07 (19)	1,15 ± 0,06 (18)	0,64 ± 0,04 (18)	3,65 ± 0,22 (12)	0,89 ± 0,04 (12)	0,25 ± 0,01 (12)
S	1,84 ± 0,09 P < 0.005	1,15 ± 0,06 P < 0.025	0,63 ± 0,04 *	3,32 ± 0,20 P < 0.005	0,82 ± 0,03 P < 0.025	0,25 ± 0,01 *
A P S	1,62 ± 0,06 (20)	1,05 ± 0,04 (19)	0,65 ± 0,03 (19)	3,05 ± 0,18 (18)	0,74 ± 0,03 (18)	0,25 ± 0,01 (18)
A V S	1,87 ± 0,09 P < 0.005	1,17 ± 0,04 *	0,64 ± 0,02 *	4,72 ± 0,22 P < 0.001	1,14 ± 0,09 P < 0,005	0,24 ± 0,02 *
A P S	1,61 ± 0,06 (17)	1,03 ± 0,05 (17)	0,65 ± 0,03 (17)	3,35 ± 0,24 (11)	0,79 ± 0,04 (11)	0,24 ± 0.01 (11)

TABLEAU XXI : C - Résultats des recollections Série Mg-F.

BIBLIOGRAPHIE

(1) ALBRIGHT, F., BAUER, W., ROPES, M., and AUB, J.C. J. Clin. Invest, 7, 139, (1929) : Studies of calcium and phosphorus metabolism. IV The effect of parathyroïd hormone.

(2) ALCOCK, N., and I. MACINTYRE. Clin. Sci, 22, 185, (1962) : Interrelation of calcium and magnesium absorption.

(3) ALCOCK, N.W. Ann. N.Y. Acad. Sci. 162, 707, (1969) : Development of methods for the determination of magnesium.

(4) ARDILL, B.L., J.A. HALLIDAY, J.D. MORISSON, H.C. MULHOLLAND and R.A. WOMERSLEY. Clin. Sci. 23, 67 ; (1962) : Interrelations of magnesium, phosphate and calcium metabolism.

(5) ALFREDSON, K.S. and M. WALSER. Néphron, 7, 241, (1970) : Is magnesium secreted by the rat renal tubule.

(6) ALDRED, J.P., R.R. KLEZYNSKI, J.W. BASTIAN. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 134, 1175, (1970) : Effects of acute administration of porcine and salmon calcitonin on urinary electrolyte excretion in rats.

(7) AMIEL, C., H. KUNTZIGER and G. RICHET. Pflügers Arch., 317, 93, (1970) : Micropunture study of handling of phosphate by proximal and distal néphron in normal and parathyroidectomized rat. Evidence for distal reabsorption.

(8) AMIEL, C., and H. KUNTZIGER. XXV Intern. Congress. Physiol. Sci., Munich, (1971), à paraitre, : Tubular reabsorption of inorganic phosphate during saline diuresis.

(9) AURBACH, G.D., J.T. POTTS Jr., L.R. CHASE and G.L. MELSON. Ann. Intern. Med. 70, 1243, (1969) : Polypeptide hormones and calcium metabolism.

(10) AVERILL, C.M., and F.W. HEATON, Clin. Sci., 31, 353, (1966) : The renal handling of Magnesium.

(11) BAINES, A.D., C.J. BAINES and C. de ROUFFIGNAC. Pflügers Arch., 308, 244, (1969) : Functional heterogeneity of nephrons.I Intraluminal flow velocities.

(12) BARKER, E.S., CLARK, J.K. and ELKINTON J.R. Fed. Proc., 16, 6, (1957) : Renal response to magnesium loading in the dog.

(13) BENJAMIN H.R., and A.F. HESS. J. Biol. Chem., 100, 27, (1933) : The forms of the calcium and inorganic phosphorus in Human and animal sera. I Normal rachitic, calcemic and others conditions.

(14) BERNSTEIN, D., C.R. KLEEMAN and M.H. MAXWELL. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 112, 353, (1963) : The effect of calcium infusion, parathyroïd hormone and vitamin D on renal clearance of calcium.

(15) BETTER, O.S., H.C. GONICK, L.C. CHAPMAN, P.D. VARRADY, C.R. KLEEMAN. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 121, 592, (1966) : Effect of uréa-saline diuresis on renal clearance of calcium, magnesium, and inorganic phosphate in Man.

(16) BLYTHE, W.B., H.J. GITELMAN and L.G. WELT. Am. J. Physiol., 214, 52, (1968) : Effect of expansion of the extracellular space on the rate of urinary excretion of calcium.

(17) BOROVSKII, I.B., Muscow. A.N., (1953), 135 : Collections of problems in metallurgy.

(18) BRAY, G.A. Anal. Biochem., 1, 279, (1960) : A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid. Scintillation countor.

(19) BRONNER, F., and D.D. THOMPSON, J. Physiol., 157, 232, (1961) : Renal transtubular flux of electrolytes in dogs with special reference to calcium.

(20) BROOKS, E.J., TOUSIMIS, A.J. and BIRKS, L.F. J. Ultrastructure Res., 7, 56, (1962) : The distribution of calcium in the epiphyseal cartilage of the rat tibia measured with the electron probe X-ray microanalyser.

(21) BRUNETTE, M., S.F. WEN, R.L. EVANSON and J.H. DIRKS. Am. J. Physiol., 216, 1510, (1969) : Micropunture study of magnesium reabsorption in the proximal tubule of the dog.

(22) BUTLER, K., TOSTESON, D.S. Fed. Proc., 27, 234, (1968) : Kinetic characteristics of the activation of sheep red. cell. membrane AT Pase by magnesium ions.

(23) CARE, A.D., T. DUCAN and D. WEBSTER. J. Endoc., 37, 155, (1967) : Thyrocalcitonin and its role in calcium homeostasis.

(24) CARONE, F.A., Clin. Res., 12, 249, (1964) : Micropuncture study of renal phosphate excretion and action of parathyroïd hormone.

(25) CASTAING, R. et A. GUINIER. Proc. Conf. Electron. Microscopy. Delft. Nijhoff, (1949), 60 : Application des sondes électroniques à l'analyse metallographique.

(26) CASTAING., R. Thèse. Université de Paris (1951) : ONERA Pub. n° 55 : Application des sondes électroniques à une méthode d'analyse ponctuelle chimique et cristallographique.

(27) CHEN P.S. Jr. and W.F. NEUMAN. Am. J. Physiol., 180, 623, (1955) : Renal excretion of calcium by the dog.

(28) CHESLEY, L.C. and I. TEPPER. J. Clin. Invest., 37, 1362, (1958) : Some effects of magnesium loading upon renal excretion of magnesium and certain other electrolytes.

(29) CLARK, I. Am. J. Physiol., 217, 871, (1969) : Metabolic interrelations of calcium, magnesium and phosphate.

(30) CLARK, I. Endocrinology, 85, 1103, (1969) : Effects of magnesium on calcium and phosphate metabolism in parathyroïdectomized rats.

(31) COBURN, J.W., S.G. MASSRY, L.W. CHAPMAN and C.R. KLEEMAN. Clin. Res., 15, 354, (1967) : Some effects of magnesium loading upon renal excretion of magnesium and certain other electrolytes.

(32) COBURN, J.W., S.G. MASSRY and C.R. KLEEMAN. Nephron, 7, 131, (1970) : The effect of calcium infusion on renal handling of magnesium with normal and reduced glomerular filtration rate.

(33) COPP, D.H. In Parathyroïd hormone and Thyrocalcitonin (Calcitonin) R.V. TALMAGE AND L.F. BELANGER Eds. Excerp. Med. Found, p. 25, (1968) : Parathyroïd hormone, Calcitonin and calcium homeostasis.

(34) COPP, D.H.. Ann. Rev. Physiol, 32, 61, (1970) : Endocrine regulation of calcium metabolism.

(35) CRAMER, C.F., PARKES, C.O., and COPP, D.H. Can. J. Physiol. Pharmacol., 47, 181, (1969) : The effect of chicken and hog calcitonin on some parameters of Ca, P and Mg metabolism in dogs.

(36) DIRKS, J.H., W.J. CIRKSENA and R.W. BERLINER. J. Clin. Invest., 44, 1160, (1965) : The effect of saline infusion on sodium reabsorption by the proximal tubule of the dog.

(37) DUARTE, C.G., and J.F. WATSON. Am. J. Physiol., 212, 1355, (1967) : Calcium reabsorption in proximal tubule of the dog nephron.

(38) ETTELDORF, J.N., and A.H. TUTTLE. J. Pediat., 41, 524, (1952) : The effects of magnesium sulfate on renal funetion in children with acute glomerulonephritis.

(39) FRICK, A., RUMRICH, G., ULLRICH, K., and W. LASSITER. Pflügers Archv., 286, 109, (1965) : Microperfusion study of calcium transport in the proximal tubule of the rat Kidney.

(40) FRICK, A., F.C. RECTOR. Jr. und D.W. SELDIN. Pflügers Archiv., 297, R-8, (1967) : Vergleich der transtubularen Konzentrationsquotienten für Kalium, Calcium 45, Bicarbonat und anorganisches phosphat im proximalen tubules der rattenniere.

(41) FRICK., A., Pflügers Archiv., 304, 351, (1968) : Reabsorption of inorganic phosphate in the Rat Kidney. I. Saturation of transport mechanism. II. Suppression of fractionnal phosphate reabsorption due to expansion of extracellular fluid volume.

(42) GALLE, P. IV. Congr. Intern. Opt. Rayons X - Microanalyse. ORSAY. Sept. 1965 - HERMANN Ed. p. 670. Applications de la microanalyse par sonde électronique à l'étude des tissus pathologiques.

(43) GEKLE, D., KOSSMANN, K. Mschr. Kinderheilk, 116, 308, (1968) : Der einflub von thyreocalcitonin auf die phosphate reabsorption der Niere (Mikropunktionsuntersuchungen).

(44) GINN, H.E., W.O. SMITH, J.F. HAMMARSTEN and D.S. NYDER. Proc, Soc. Exp. Biol. Med., 101, 691 (1959) : Renal tubular secretion of magnesium in dogs.

(45) GITELMAN, H.J., S. KUKOLJ and L.G. WELT. Am. J. Physiol., 215, 483, (1968) : Inhibition of parathyroïd gland activity by hypermagnesemia.

(46) GITELMAN, H.J., S. KUKOLJ and L.G. WELT. J. Clin. Invest., 47, 118, (1968) : The influence of the parathyroïd glands on the hypercalcemia of experimental depletion in the rat.

(47) GOTTSCHALK, C.W. and M. MYLLE : Am. J. Physiol., 185, 430, (1956) : Micropuncture study of pressures in proximal tubules and peritubular capillaries of the rat kidney and their relation to ureteral and renal venous pressure.

(48) HALE, A.J., HALL, T.A. and CURRAN R.G. X Ray microscopy Symposium (Paris), p. 686, (1965) : Scanning electron probe analysis of human arterial wall.

(49) HANSEN, O.E., Acta Pathol. Microbiol. Scandinav., 53, 265, (1961) : The relation ship between glomerular filtration and length of the proximal convoluted tubule in mice.

(50) HEATON. F.W. Clin. Sci., 28, 543, (1965) : The parathyroïd glands and magnesium metabolism in the rat.

(51) HEATON. F.W. Ann. N.Y. Acad. Sci., 162, 775, (1969) : The Kidney and magnesium homeostasis.

(52) HELLER, B.I., HAMMARSTEN, J.F. and STUTZMAN, F.L. J. Clin. Invest., 32, 858, (1953) : Concerning the effects of magnesium sulfate on renal function, electrolyte excretion and clearance of magnesium.

(53) HIATT, H.H. and D.D. THOMPSON. J. Clin. Invest., 36, 557, (1957) : The effects of parathyroïd extract on renal function in man.

(54) HIRSCH, P.F., MUNSON., P.L. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 248, 319, (1964) : The phosphaturic response of thyroparathyroïdectomized dogs to the administration of parathyroïd hormone by unilateral renal arterial infusion.

(55) HUNT, B.J. Clin. Chem., 15, 979, (1969) : The estimation of magnesium in plasma, muscle and bone, by atomic absorption spectrophotometry.

(56) INGRAM, M.J. and C.R.M. HOGBEN. Analytical Biochem., 18, 54, (1967) : Electrolyte analysis of biological fluids with the electron microprobe.

(57) JANDA, S., Physiol. Bohemoslov., 18, 424, (1969) : Interaction of strontium and magnesium ions with the transport of calcium and phosphate in kidney cortex slices.

(58) JOLIFFE, N., SHANNON, J.A. and SMITH H.W. Am. J. Physiol., 100, 301, (1932) : The excretion of urine in the dog : III. The use of non-metabolized sugars in the measurement of the glomerular filtrate.

(59) KENNY, A.D. and C.A. HEISKELL. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 120, 269, (1965) : Effect of crude thyrocalcitonin on calcium and phosphorus metabolism in rats.

(60) KLEEMAN, C.R., R.E. ROCKNEY and M.H. MAXWELL. J. Clin. Invest., 37, 907, (1958) : The effect of parathyroïd extract (P T E) on the renal clearance of diffusible calcium.

(61) KNIPPERS, R. und U. HEHL. Zeitschrift. ges. Exp. Med., 139, 154, (1965) : Die renale ausscheidung von magnesium, calcium und Kalium nach erhöhung der magnesiumkonzentration im plasma des Hundes.

(62) KOHLER, H.F. and PECHET, M.M. J. Clin. Invest., 45, 1033, (1966) : The inhibition of bone resorption by thyrocalcitonin.

(63) KRUSE, H.D., ORENT, E.R. and Mc. COLLUM, E.V. J. Biol. Chem., 96, 519, (1932) : Studies on magnesium deficiency in animals. I- Symtomatology resulting from magnesium deprivation.

(64) KUPFER, S. and J.D. KOSOVSKY. J. Clin. Invest., 44, 1132, (1965) : Effects of cardiac glycosides on renal tubular transport of calcium, magnesium, inorganic phosphate and glucose in the dog.

(65) LAMBERT, P.P., F. VANDERVEIKEN, J.P. DE KOSTER, R.I. KAHN and M. DE MYTTENAERE. Nephron 1, 103, (1964) : Study of phosphate excretion by the stop - flow technique.

(66) LASSITER, W.E., C.W. GOTTSCHALK and M. MYLLE. Am. J. Physiol., 204, 771, (1963) : Micropuncture study of renal tubular reabsorption of calcium in normal rodents.

(68) LECHENE, C., F. MOREL, M. GUINNEBAULT et C. de ROUFFIGNAC. Nephron, 6, 457, (1969) : Etude par microponction de l'élaboration de l'urine. I- Chez le rat dans différents états de diurèse.

(69) LE GRIMELLEC, C. et C. de ROUFFIGNAC. Néphron (à paraître) : Etude par microponction du comportement rénal de l'eau et des solutes chez le rat. Absence d'équilibration osmotique du fluide tubulaire le long du segment contourné distal du néphron.

(70) LE GRIMELLEC, C. and C. LE CHENE. 4th. Ann. Meet. Am. Soc. Nephrol. Washington, 1970 : Renal effect of thyroïd calcium infusion in parathyroïdectomized rats. Electron probe analysis.

(71) LE GRIMELLEC, C., N. ROINEL and F. MOREL, à paraître ; Electron Probe Analysis of Mg, Ca, P, Na, Cl and K in the nephron of non diuretic rats.

(72) LE VINSKY, N.G. and R.C. LALONE. J. Clin. Invest., 42, 1261, (1963) : The mechanism of sodium diuresis after sadine infusion in the dog.

(73) LUSK , J.E., R.J.P. WILLIAMS and E.P. KENNEDY. J. Biol. Chem., 243, 2618 (1968) : Magnesium and the growth of Escherichia coli.

(74) Mc. INTYRE, I., S. BOSS and V.A. TROUGHTON. Nature, 198, 1058, (1963) : Parathyroïd hormone and magnesium homeostasis.

(75) MACRAE, I.F., H.F. KOHLER and M.M. PECHET. Clin. Res., 11, 223, (1963) : Interrelationship of Mg, Ca and P metabolism.

(76) MALVIN, R.L., W.S. WILDE, and L.P. SULLIVAN. Am. J. Physiol., 194, 135 (1958) : Localization of nephron transport by stop-flow analysis.

(77) MASSRY, S.G., J.W. COBURN, L.W. CHAPMAN and C.R. KLEEMAN. Am. J. Physiol., 213, 1218 (1967) : Effect of NaCl Infusion on urinary Ca^{tt} and Mg^{tt} during reduction in their filtered loads.

(78) MASSRY, S.G., J.W. COBURN and C.R. KLEEMAN. Am. J. Physiol., 216, 1460, (1969) : Renal handling of magnesium in the dog.

(79) MASSRY, S.G., I.J. AHUMADA, J.W. COBURN and C.R. KLEEMAN. Am. J. Physiol., 219, 881, (1970) : Effect of $MgCl_2$ infusion on urinary Ca and Na during reduction in their filtered loads.

(80) MASSRY, S.G., J.W. COBURN and C.R. KLEEMAN. J. Clin. Invest., 49, 1619 (1970) : Evidence for suppression of parathyroïd gland activity by hypermagnesemia.

(81) MENDEL, L.B. and S.R. BENEDICT. Am. J. Physiol., 25, 1, (1909) : The paths of excretion for inorganic compounds. IV - The excretion of magnesium.

(82) MILHAUD, G., MOUKTHAR, M.S., CHERIAN, G. et PERAULT, A.M. C.R. Acad. Sci. Paris, 262, 511, (1966) : Effet de l'administration de thyrocalcitonine sur les principaux paramètres du métabolisme du calcium du rat normal et du rat thyroparathyroïdectomisé.

(83) MILHAUD, G. Ann. Endoc. Paris, 29, 563, (1968) : Données récentes sur la thyrocalcitonine.

(84) MOORE, E.W. J. Clin. Invest., 49, 318, (1970) : Ionized calcium in normal serum, ultrafiltrates and whole blood determined by ion - exchange electrodes.

(85) MOREHEAD, R.M. Jr. and D.M. KESSNER. Am. J. Physiol., 217, 1608, (1969) : Effects of Mg deficiency and parathyroïdectomy on gastrointestinal Ca transport in the rat.

(86) MOREL, F. et C. LUCARAIN. J. Physiol. (Paris). 59, 460, (1967) : Un spectrophotomètre à flamme pour le dosage du sodium et du potassium dans des échantillons biologiques de l'ordre du nanolitre.

(87) MOREL, F. et N. ROINEL. J. Chim. Phys., 66, 1084, (1969) : Application de la microsonde électronique à l'analyse élémentaire quantitative d'échantillons liquides d'un volume inférieur à 10^{-9} l.

(88) MOREL, F., N. ROINEL and C. LE GRIMELLEC. Nephron, 6, 350, (1969) : Electron probe analysis of tubular fluid composition.

(89) MUNSON, P.L., P.F. HIRSCH, H.B. BREWER, R.A. REISFELD, C.W. COOPER, A.B. WASTHED, H. ORIMO and J.T. POTTS. Jr. Recent. Progress. in hormone research. Ed. E.B. ASTWOOD, 24, 589, (1968) : Thyrocalcitonin.

(90) MURYAMA, Y., C. LE GRIMELLEC et F. MOREL. Résultats non publiés.

(91) MURDAUCH, H.V. and ROBINSON, R.R. Am. J. Physiol., 198, 571, (1960) : Magnesium excretion in the dog studied by stop-flow analysis.

(92) NIELSEN, B. Acta. Endocr., 45, 151, (1964) : Correlation between antidiuretic hormone effect and the renal excretion of magnesium and calcium in man.

(93) OGASAWARA, K. Igaku. Seibutsugaku., 29, 250, (1953) : Inorganic substances in the animal serum. I. Total and ionized calcium and total magnesium in the serum.

(94) PECHET, M.M., E. BOBADILLA, E.L. CARROLL, and R.H. HESSE. Am. J. Med., 43, 696, (1967) : Regulation of bone resorption and formation.

(95) PEDERSEN, K.O. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 25, 223, (1970) : Determination of calcium fractions of serum. III. Ionized calcium in ultrafiltrates of normal serum and examination of pertinent variable.

(96) POULOS, P.P. J. Lab. Clin. Med., 49, 253, (1957) : The renal tubular reabsorption and urinary excretion of calcium by the dog.

(97) PORS NIELSEN, S., O. ANDERSEN and K.E. STEVEN. Acta. Pharmacol. et toxicol., 27, 469, (1969) : Magnesium and calcium metabolism during prolonged furosemide (Lasix R) administration to normal rats.

(98) PRITCHARD, J.A. Sirg. Gynec. Obstret, 100, 131, (1955) : The use of the magnesium ions in the management of eclamptogenic toxemias.

(99) RADDE, I.G., E.R. WITTERMANN and S. PENSUWAN. Endocrinology, 83, 1285, (1968) : Effect of thyroïd and parathyroïd on hypocalcemia occuring after a magnesium load.

(100) RAMSAY, J.A. and R.H. BROWN. J. Sci. Instr., 32, 372, (1955) : Simplified apparatus and procedure for freezing-point determinations upon small volumes of fluid.

(101) RASMUSSEN, H., C. ANAST and C. ARNAUD. J. Clin. Invest., 46, 746, (1967) : Thyrocalcitonin, EGTA and urinary electrolyte excretion.

(102) RAYNAUD, C., Am. J. Physiol., 203, 649, (1962) : Renal excretion of magnesium in the rabbit.

(103) RICHARDS, A.N. and A.M. WALKER. Am. J. Med. Sci., 190, 727, (1935) : Urine formation in the amphibian kidney.

(104) ROBERTSON, A.J., RIVERS, D., NAGELSCHMIDT, G. and DUNCUMB, P. Lancet. 1, 1089, (1961) : Stannosis : Benign pneumoconiosis due to tin dioxide.

(105) ROUFFIGNAC, C. de, et MOREL, F. Arch. Anat. Micr. Morph. Exp., 56, 123, (1967) : Etude par microdissection de la distribution et de la longueur des tubules proximaux dans le rein de cinq espèces de rongeurs.

(106) ROUFFIGNAC, C. de, BAINES, A.D. : Abstracts 4th. Int. Congr. Nephrol. Stockholm, 1969. Vol. I., p. 32 : Filtration rate of single superficial and deep glomeruli during different states of diuresis.

(107) ROUFFIGNAC, C. de, S. DEISS et J.P. BONVALET. Pflügers Archiv., 315, 273, (1970) : Determination du taux individuel de filtration glomérulaire des néphrons accessibles et inaccessibles à la microponction.

(108) ROUFFIGNAC, C. de. Thèse. Univ. Paris. C N R S AO 3600. (1970) : Rôle physiologique de l'anse de Henlé dans les mécanismes de concentration de l'urine.

(109) SAMIY, A.H.E., J.L. BROWN, D.L. GLOBUS, R.H. KESSLER and D.D. THOMPSON. Am. J. Physiol., 198, 599, (1960) : Interrelation between renal transport systems of magnesium and calcium.

(110) SAMIY, A.H., P.F. HIRSCH and A.G. RAMSAY. Am. J. Physiol., 208, 73, (1965) : Localization of phosphatiruc effect of parathyroïd hormone in nephron of the dog.

(111) SHANNON, J.A. and SMITH, H.W. J. Clin. Invest., 14, 393, (1935) : The excretion of inulin, xylose and uréa by normal and phlorizinized man.

(112) SHERWOOD, L.M., I. HERRMAN, C. A. BASSETT. Nature, 225, 1056, (1970) : Parathyroïd hormone secretion in vitro : Regulation by calcium and magnesium Ions.

(113) SCHOUTENS. A. et C. RAYNAUD. Néphron 5, 217, (1968) : Etude de la perméabilité du néphron de l'homme aux électrolytes.

(114) SNEDECOR, G.W. Iowa. State univ. Press. (1956) : Statistical methods.

(115) STACY, B.D. and B.W. WILSON. J. Physiol., 210, 549, (1970) : Acidosis and hypercalciuria : renal mechanisms affecting calcium, magnesium and sodium excretion in the sheep.

(116) STRICKLER, J.C., D.D. THOMPSON, R.M. KLOSE and G. GIEBISCH. J. Clin. Invest. 43, 1596, (1964) : Micropuncture study of inorganic phosphate excretion in the rat.

(117) TALMAGE, R.V. and F.W. KRAINTZ. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 87, 263, (1954) : Progressive changes in renal phosphate and calcium excretion in rats following parathyroïdectomy or parathyroïd administration.

(118) TALMAGE, R.V., F.W. KRAINTZ and G.D. BUCHANAN. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 88, 600, (1955) : Effect of parathyroïd extract and phosphate salts on renal calcium and phosphate excretion after parathyroïdectomy.

119) TORIBARA, T.Y., A.R. TEREPKA and P.A. DEWEY. J. Clin. Invest., 36, 738, (1957) : The ultrafiltrable calcium of human serum. I. Ultrafiltrable methods and normal values.

(120) ULRICH, F. J. Biol. Chem., 239, 3532, (1964) : Kinetic studies of the activation of mitochondrial adenosine triphosphatase by Mg^{++}.

(121) VOSTAL, J., KÜCHEL, O. and PACOVSKY, V. Klin. Wschr., 41, 537, (1963) : Tubuläre sekretion von Mg beim menschen.

(122) WALLACH, S. and A.C. CARTER. Am. J. Physiol., 200, 359, (1961) : Metabolic and renal effects of acute hypercalcemia in dogs.

(123) WALSER, M. and A. BROWDER, J. Clin. Invest., 37, 940, (1958) : Effect of sulfate on physical state and renal excretion of divalent cations.

(124) WALSER, M. and A. BROWDER, J. Clin. Invest., 38, 1404, (1959) : Ion association. III. The effect of sulfate infusion on calcium excretion.

(125) WALSER, M. J. Clin. Invest., 39, 501, (1960) : Protein binding of inorganic phosphate in plasma of normal subjects and patients with renal disease.

(126) WALSER, M. J. Clin. Invest., 40, 723, (1961) : Ion association. VI- Interactions between calcium, magnesium, inorganic phosphate, citrate and protein in normal human plasma.

(127) WALSER, M. Ergebnisse der Physiologie, 59, 185, (1967) : Magnesium Metabolism.

(128) WEN, S.F., R.L. EVANSON and J.H. DIRKS. Am. J. Physiol., 219, 570, (1970) : Micropuncture study of renal magnesium transport in proximal and distal tubule of the dog.

(129) WEN, S.F., N.L.M. WONG, and J.H. DIRKS. Am. J. Physiol, 220, 33, (1971) : Evidence for renal magnesium secretion during magnesium infusions in the dog.

(130) WESSON, L.G. jr and D.P. LAULER. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 101, 235, (1959) : Nephron reabsorptive site for calcium and magnesium in the dog.

(131) WESSON, L.G. Jr. J. Lab. Clin. Med., 59, 422, (1962) : Magnesium, calcium and phosphate excretion during osmotic diuresis in the dog.

(132) WESSON, L.G. Jr. J. Lab. Clin. Med., 59, 630, (1962) : Organic mercurial effects on renal tubular reabsorption of calcium and magnesium and phosphate excretion in the dog.

(133) WINDHAGER, E.E. Butterworths Ed. Molecular Biol and Med. Series. (1968) : Micropuncture techniques and néphron function.

(134) WIDDOWSON, E.M. and J.W.T. DICKERSON in Minera l Metabolism. C.L. COMAR and F. BRONNER. Eds. Vol. 2, part A. Academic Press. (1964) : Chemical composition of the body.

(135) WIDROW, S.H. and N.G. LEVINSKY. J. Clin. Invest. 41, 2151, (1962) : The effect of parathyroïd extract on renal tubular calcium reabsorption in the dog.

(136) WOLF. A.V. and BALL, S.M. J. Physiol., 158, 205, (1949) : Effect of intravenous calcium salts on renal excretion in the dog.

(137) WOMERSLEY, R.A. Clin. Sci., 15, 465, (1956) : Studies on the renal excretion of magnesium and other electrolytes.

(138) ZIEGLER, R. and E.F. PFEIFFER. Proc. Symposium. Thyrocalcitonin. C. Cells. London (1967), 290 : The effect of exogenous and endogenous thyrocalcitonin on phosphaturia.

Vu et Approuvé

PARIS, le . . 2 Juillet . . 1971

Le Président

de l'Université de PARIS VI